

**POLSKIE TOWARZYSTWO TECHNOLOGÓW ŻYWNOŚCI
ODDZIAŁ MAŁOPOLSKI**

**WYDZIAŁ TECHNOLOGII ŻYWNOŚCI
UNIwersytet Rolniczy im. Hugona Kołłątaja
w Krakowie**

KOMITET NAUK O ŻYWNOŚCI PAN

SKŁADNIKI BIOAKTYWNE SUROWCÓW I PRODUKTÓW ROŚLINNYCH

**Jacek Słupski, Tomasz Tarko, Iwona Drożdż
(redaktorzy)**

Recenzenci Naukowi

dr hab. inż. Anna Korus, dr hab. inż. Piotr Gębczyński, dr hab. inż. Tomasz Tarko, dr hab. inż. Paweł Satora prof. UR, dr hab. inż. Jacek Słupski, dr hab. inż. Stanisław Kowalski, prof. dr hab. inż. Jacek Domagała, dr inż. Marek Sady, prof. dr hab. inż. Teresa Leszczyńska, dr Iwona Drożdż, dr hab. inż. Ewelina Węsierska, prof. dr hab. inż. Władysław Migdał, dr inż. Małgorzata Tabaszewska, dr Łukasz Skoczylas, prof. dr hab. inż. Elżbieta Sikora, dr hab. inż. Mariusz Witczak, dr Małgorzata Makarewicz, prof. dr hab. Krzysztof Surówka, dr hab. inż. Magdalena Michalczyk

Redakcja

Dr hab. inż. Tomasz Tarko
Dr Iwona Drożdż
Dr hab. inż. Jacek Słupski

Projekt okładki

Dr Łukasz Byczyński

Wydawca

Oddział Małopolski Polskiego Towarzystwa Technologów Żywności
31-149 Kraków, ul. Balicka 122

© *Copyright by Polskie Towarzystwo Technologów Żywności, Kraków 2014*

Wydawnictwo finansowane przez
Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego



Ministerstwo Nauki
i Szkolnictwa Wyższego

XIII Konferencja Naukowa z cyklu ŻYWNOŚĆ XXI WIEKU „ŻYWNOŚĆ A SKŁADNIKI BIOAKTYWNE”, 24-25 września 2018 - zadanie finansowane w ramach umowy 774/P-DUN/2018 ze środków Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego przeznaczonych na działalność upowszechniającą naukę.

ISBN 978-83-946796-1-3

Za treść zamieszczonych materiałów odpowiadają ich autorzy

SPIS TREŚCI

<i>Barbara KROCHMAL-MARCZAK, Barbara SAWICKA</i>	
Możliwości wykorzystania batata (<i>Ipomoea batatas</i> L. [Lam]) w produkcji żywności funkcjonalnej	5
<i>Ewa PIĄTKOWSKA, Agnieszka BISZTYGA, Aneta KOPEĆ, Teresa LESZCZYŃSKA</i>	
Skład chemiczny i właściwości przeciwutleniające różnych odmian Maki (<i>Lepidium Preuvianum</i> Chacon)	15
<i>Marzena PABICH, Małgorzata MATERSKA, Monika STASZOWSKA-KARKUT</i>	
Porównanie zawartości składników bioaktywnych w nasionach oraz innych częściach anatomicznych soi	27
<i>Renata BIEŻANOWSKA-KOPEĆ, Anna Magdalena AMBROSZCZYK, Teresa LESZCZYŃSKA</i>	
Porównanie wartości odżywczej oraz zawartości składników bioaktywnych różnych odmian ketmii jadalnej (<i>Abelmoschus esculentus</i>)	37
<i>Dorota KONOPACKA, Krzysztof P. RUTKOWSKI, Witold J. PŁOCHARSKI</i>	
Owoce i warzywa jako składnik zdrowej diety człowieka	46
<i>Łukasz SKOCZYLAS, Marta LISZKA-SKOCZYLAS, Daniel ŻMUDZIŃSKI, Dagmara RUDNIK</i>	
Biofortyfikacja roślin uprawnych jako metoda walki z deficytem składników mineralnych w diecie człowieka	58
<i>Joanna SOBOLEWSKA-ZIELIŃSKA, Kornelia TWARDOWSKA, Małgorzata BĄCZKOWICZ, Teresa FORTUNA</i>	
Stabilność witaminy C w syropach z kwiatu mniszka lekarskiego (<i>Taraxacum officinale</i>) w okresie przechowywania	68
<i>Paulina ZEGARTOWSKA, Anna KORUS, Radostawa SKOCZEŃ-SŁUPSKA</i>	
Wartość odżywcza i prozdrowotna wyłoków z owoców i warzyw	79
<i>Iwona JASIŃSKA-KULIGOWSKA, Piotr SUSZKO, Maciej KULIGOWSKI</i>	
Wyłoki lniane jako źródło fitoestrogenów i innych związków bioaktywnych	90
<i>Maria SIELICKA, Sylwia SADY, Alfred BŁASZCZYK, Natalia LEWANDOWSKA, Agnieszka ŁOSIEWSKA, Malwina KULPA</i>	
Porównanie wybranych wyróżników jakościowych pasteryzowanych soków z aronii czarnoowocowej	102
<i>Małgorzata TABASZEWSKA</i>	
Ocena wybranych właściwości prozdrowotnych konfitur z borówki brusznicy	111
<i>Tomasz TARKO, Aleksandra DUDA-CHODAK, Anna ŁOBODA</i>	
Wpływ wybranych zabiegów na wydajność tłoczenia i parametry jakościowe moszczów jabłkowych	123
<i>Monika DRUŻKOWSKA, Halina GAMBUŚ, Florian GAMBUŚ, Gabriela ZIĘĆ</i>	
Wpływ preparatów błonnikowych na jakość i starzenie się chleba pszennego	132
<i>Katarzyna MARCINIAK-ŁUKASIAK, Anna ŻBIKOWSKA, Miroslava KAČÁNIOVÁ</i>	
Ocena jakości batonów zbożowych z dodatkiem wybranych surowców odpadowych przemysłu owocowego	143
<i>Paulina NOWICKA, Monika GŁADZIK, Aneta WOJDYŁO, Jan OSZMIAŃSKI</i>	
Pestka z wiśni – surowiec odpadowy o wysokim potencjale prozdrowotnym	154
<i>Anna DANKOWSKA, Paulina MISIAK</i>	
Oznaczanie zawartości kofeiny w naparach z herbat przy wykorzystaniu spektroskopii UV oraz NIR	165

<i>Małgorzata DŻUGAN</i> Rola siarkoorganicznych związków czosnku (<i>Allium sativum</i>) w ograniczaniu biodostępności kadmu z diety	176
<i>Alina KUNICKA-STYCZYŃSKA</i> Bioaktywne substancje pochodzenia roślinnego w konserwacji i stabilizacji żywności	184
<i>Kinga DZIADEK, Anna ADÁMKOVÁ, Ewelina KUKIEŁKA, Aneta KOPEĆ</i> Chemical composition and antioxidant activity of traditional and novel fermented vegetables	193
<i>Bogumiła URBAŃSKA, Dorota MIARKA, Jolanta KOWALSKA</i> Charakterystyka czynników oraz wpływ wybranych aktywatorów na dynamikę fermentacji wysokocukrowych nastawów winiarskich	203
<i>Karolina KIJOWSKA, Grzegorz KOWALSKI, Teresa WITCZAK, Marcelina NOWAK</i> Właściwości hydrożeli na bazie wysokometylowanych pektyn	211
<i>Libor ČERVENKA, Tomáš HÁJEK, Iveta BROŽKOVÁ</i> RAW vegan meal: the effect of moderate drying temperature on antioxidant properties and microbial contamination	224
<i>Alina KUNICKA-STYCZYŃSKA, Agnieszka TYFA</i> Bakterie <i>Alicyclobacillus acidoterrestris</i> oraz kontrola ich rozwoju przez naturalne substancje pochodzenia roślinnego	229
<i>Małgorzata MAKAREWICZ, Iwona DROŻDŻ, Dagmara SOBCZAK, Paweł SATORA</i> Stabilność mikrobiologiczna niepasteryzowanych soków owocowych z dodatkiem produktów pszczelich	238
<i>Aleksandra DUDA-CHODAK, Tomasz TARKO, Katarzyna PETKA, Katarzyna WÓJCIK</i> Wpływ wybranych ziół i preparatów ziołowych na bakterie probiotyczne	253
<i>Ewa DOMIAN</i> Wybrane aspekty stabilności sproszkowanych środków spożywczych w stanie amorficznym	262
<i>Emilia BERNAŚ</i> Grzyby jadalne jako źródło składników bioaktywnych	280
<i>Inga KLIMCZAK, Ewa MACIEJEWICZ</i> Wpływ ekstraktu z dzikiej róży na barwę mętnego soku jabłkowego	288
<i>Joanna BANAŚ, Katarzyna PIŁOT, Krzysztof SURÓWKA, Ireneusz MACIEJASZEK, Magdalena WITEK</i> Charakterystyka spektrofotometryczna wybranych produktów przekąskowych.....	299

MOŻLIWOŚCI WYKORZYSTANIA BATATA (*IPOMOEA BATATAS* L. [LAM]) W PRODUKCJI ŻYWNOSCI FUNKCJONALNEJ

Streszczenie

Batata ze względu na wyjątkowe właściwości odżywcze i funkcjonalne stała się przedmiotem wielu badań naukowych. Zawarte w jej bulwach i liściach węglowodany, białka, lipidy, karotenoidy, antocyjany, witaminy oraz składniki mineralne czynią ją bardzo wartościowym warzywem. Unikalna kompozycja tych składników przyczynia się do różnych korzyści zdrowotnych, takich jak: działanie przeciwutleniające, hepatoprotekcyjne, przeciwzapalne, przeciwnowotworowe i przeciwcukrzycowe. Dlatego też batata i produkty z bataty, o charakterze prozdrowotnym mogą z powodzeniem stanowić składnik żywności funkcjonalnej.

Słowa kluczowe: batata, liście, bulwa, żywność funkcjonalna

POSSIBLE USES OF SWEET POTATO (*IPOMOEA BATATAS* L. [LAM]) IN FUNCTIONAL FOOD PRODUCTION

Abstract

Due to its high nutritional and functional value, sweet potato has become a popular subject of scientific research. The content of carbohydrates, proteins, lipids, carotenoids, anthocyanins, vitamins, and minerals in the tubers and leaves make it a particularly nutritious vegetable. The unique composition of those nutrients results in a number of health benefits, such as antioxidant, hepatoprotective, anti-inflammatory, anti-cancer and antidiabetic properties. Therefore, sweet potato and sweet-potato-based healthy products can be effectively used as ingredients of functional food.

Key words: sweet potato, leaves, tuber, functional food

Wstęp

W ostatnich latach coraz bardziej popularna na całym świecie staje się żywność funkcjonalna, która poza swoją tradycyjną funkcją żywieniową ma dodatkowy, udokumentowany, korzystny wpływ na zdrowie człowieka. Spożywanie takiej żywności pozwala zmniejszyć ryzyko rozwoju pewnych chorób cywilizacyjnych, jak np. otyłość, cukrzyca, choroby układu sercowo-naczyniowego czy nowotwory. Jednym ze sposobów zapobiegania tym chorobom jest wytwarzanie żywności wzbogacanej w różne

bioaktywne składniki, m.in. witaminy, składniki mineralne, wielonienasycone kwasy tłuszczowe, błonnik, związki fenolowe, fitosterole, oligosacharydy, a także w szczepie bakterii probiotycznych. Takim surowcem wykorzystywanym do produkcji żywności funkcjonalnej może być batat (*Ipomoea batatas* L. [Lam.]). Warzywo to ze względu na wysoką wartość odżywczą bulw, staje się coraz bardziej popularnym warzywem wśród konsumentów w Polsce [Krochmal-Marczak i Sawicka, 2006; 2007; 2009; 2015]. Bulwy tego gatunku zawierają 21,51-34,36% suchej masy, w tym ok. 14% skrobi, ponad 5% cukrów; 3-8% białka, 0,6-0,9% włókna surowego, 1% surowego tłuszczu oraz witaminy: B₁, B₂, PP, C, a także niewielkie ilości β-karotenu [Antia i in., 2006; Low, 2007; Hue i in., 2011]. Batat uważany jest za jedno z najbardziej odżywczych warzyw, a jego wartość odżywcza jest o ok. 50% wyższa niż bulw ziemniaka [Sawicka i in., 2000; Sawicka i in., 2004; Krochmal-Marczak i in., 2014]. Bulwy oraz liście *Ipomoea batatas* mogą być także doskonałym surowcem dla przetwórstwa spożywczego, z uwagi na ich bardzo bogaty skład chemiczny, szczególnie specjalizującego się w produkcji odżywek dla małych dzieci i niemowląt, jak również wytwarzającego produkty smażone czy kandyzowane [Sun i in., 2014]. Batat, z uwagi na wysoką zawartość rozpuszczalnych cukrów, może służyć jako łatwo strawny pokarm dla dzieci i doskonała żywność dla diabetyków [Ludvik i in., 2004; Allen i in., 2012]. Według badań Zengina i in. [2017] batat można uznać za surowiec do produkcji żywności funkcjonalnej w celu wspomagania leczenia chorób metabolicznych takich jak cukrzyca typu 2. W opinii Monharaya i Sivasankara [2014] batat jest warzywem o wszechstronnym znaczeniu użytkowym, smacznym i bardzo odżywczym, a dodatkowo jest również cenną rośliną leczniczą o działaniu przeciwnowotworowym, przeciwcukrzycowym, przeciwzapalnym i może stanowić surowiec dla przemysłu farmaceutycznego, ale także może być wykorzystywany do wzbogacenia codziennej diety. Celem pracy było podsumowanie istniejącej wiedzy na temat wartości zdrowotnych batata, a także określenie możliwości wykorzystania tego gatunku w produkcji żywności funkcjonalnej.

Charakterystyka biologiczna

Batata (*Ipomoea batatas* (L.) [Lam.]), zwany w Polsce wilcem ziemniaczanym, a w Ameryce Północnej słodkim ziemniakiem (sweet potato), to gatunek należący do rodziny powojowatych (*Convolvulaceae*) pochodzący z Ameryki Południowej [Austin, 1987]. Uprawiany jest we wszystkich krajach podzwrotnikowych Ameryki, Afryki i Azji. W odpowiednio dogodnych warunkach może być uprawiany również w strefie umiarkowanej. Optymalne warunki uprawy tego gatunku stwarza temperatura powietrza ok. 26-30°C i opady roczne w wysokości 650-800 mm, co odpowiada strefie klimatycznej leżącej między 40° obu szerokości geograficznych i do wysokości 2000 m

n.p.m. Gatunek ten może być uprawiany nawet w kwaśnym środowisku. Optymalne pH gleby mieści się między 4,5 a 7,0 [Katayama i in., 1999; Sawicka i in., 2000; Agarwal i in., 2012; Krochmal-Marczak i Sawicka 2015]. W warunkach glebowo-klimatycznych Polski batat jest rośliną jednoroczną, jarą, wykształcającą obok korzeni również bulwy, które tworzą się w okresie 4-5 miesięcy wegetacji [Krochmal-Marczak i Sawicka 2006; 2007; 2009; Sawicka i in., 2018]. Jako roślina dnia krótkiego kwitnie tylko w obszarach przyrównikowych, rzadko jednak tworzy nasiona. Rozmnaża się więc wegetatywnie, za pośrednictwem bulw korzeniowych oraz ukorzenionych sadzonek. Organem użytkowym są bulwy. Ich kształt jest kulisto-owalny, owalny lub wrzecionowaty, a barwa skórki i miąższu może być biała, kremowa, żółta, czerwona i fioletowa. Masa jednej bulwy, w warunkach Polski, może dochodzić nawet do 1,5-2 kg, a w warunkach tropikalnych do 3 kg [Krochmal-Marczak i Sawicka 2007; 2015; Matimati i in., 2005]. Materiały zapasowe są gromadzone głównie w walcu osiowym, otoczonym cienką warstwą korową. Głównym materiałem zapasowym *Ipomoea batatas* są węglowodany. Znaczna zawartość cukru powoduje, że bulwy są słodkie [Katayama i in., 1999; Krochmal-Marczak i in., 2014]. Bulwy, uprawiane w warunkach glebowo-klimatycznych Polski, zawierają około 27% suchej masy, w tym: ok. 22% skrobi, 2,8% białka oraz ponad 2% cukrów (stąd ich słodkawy smak), ponadto dużo witaminy C (ok. 23 mg 100 g^{-1}) [Sawicka i in., 2000]. Odmiany o żółtym miąższu, zawierają również znaczne ilości karotenów i karotenoidów (ok. 4 mg 100 g^{-1}), a ich koncentracja jest wyższa niż w dyni, brokułach czy szpinaku [Navas i Carrasquero, 1999; Krochmal-Marczak i in., 2014]. Bulwy tego gatunku są wysokoenergetyczne i stanowią doskonały pokarm dla ludzi oraz surowiec dla przemysłu przetwórczego, a 100 g bulw dostarcza ok. 112 kalorii [Katayama i in., 1999; Yang i in., 1999]. Mogą one być wykorzystywane do spożycia w formie gotowanej, pieczonej, smażonej, suszonej, kandyzowanej, konserwowanej oraz mogą służyć do wyrobu syropu maltozowego, napojów alkoholowych i skrobi. Części nadziemne mogą stanowić paszę dla zwierząt lub też można je wykorzystać do produkcji bioetanolu oraz biometanu. Plon bulw batata uzyskany w Polsce jest wyższy niż ziemniaka czy słonecznika bulwiastego [Sawicka i in., 2000; 2004; Krochmal-Marczak i Sawicka 2009]. Oprócz bulwy korzeniowej batata jadalne są również liście i pędy nadziemne [Mohanraj i Sivasankar, 2014; Tan, 2015].

Batat jako surowiec funkcjonalny

Bardzo ważna, ze względów żywieniowych, jest zawartość białka, którą w bulwach batata określa się na 1,1-1,8%. Aminokwasy egzogenne, występujące w nich w odpowiednich ilościach, biorą udział w utrzymaniu bilansu wodnego oraz regulacji zawartości płynów w układzie krążenia oraz w przestrzeniach wewnątrz- i pozakomórkowych. Dzięki własnościom buforującym białka, po spożyciu,

współuczestniczą w utrzymywaniu równowagi kwasowo-zasadowej [Kusano, 2005; Tang i in., 2015].

Błonnik nierozpuszczalny, zawarty w bulwach batata może zapobiegać zaparciom, uchyłkowatości, hemoroidom, otyłości. Może również jako dodatek do żywności, spowalniać absorpcję glukozy oraz powodować uczucie sytości. Rozpuszczalne pektyny utrzymują prawidłowe stężenie cholesterolu we krwi. Z kolei błonnik rozpuszczalny pomaga zmniejszyć poziom cholesterolu frakcji LDL. Jest to bardzo korzystne zwłaszcza dla chorych na cukrzycę, gdyż to oni stanowią grupę zwiększonego ryzyka zachorowalności na chorobę wieńcową [Islam, 2006; 2018].

Dzięki zawartości witamin, takich jak: witamina C, prowitamina A, tiamina, ryboflawina, niacyna, kwas pantotenowy, witamina B6, folacyna, cholina, α - i β - tokoferol oraz witamina K, bulwy batata mogą zapobiegać ślepotcie i chorobom zwyrodnieniowym oczu [Lim i in., 2013; Hotz i in., 2012]. Bulwy batata zawierają β -karoten, który może wspomagać leczenie niektórych nowotworów (żołądka, trzustki, jamy ustnej i dziąseł), przeciwdziałać zwyrodnieniom plamki żółtej, poprawiać widzenie w ciemności, zwiększać wydzielanie mleka u kobiet karmiących piersią, usuwać trucizny z organizmu, leczyć biegunkę, regenerować zniszczoną skórę [Perera i Yen, 2007; Masaki, 2010; Bołonkowska i in., 2011]. Ponadto β -karoten zmniejsza ryzyko wystąpienia cukrzycy typu 2 oraz przyczynia się do zmian we frakcjach cholesterolu – obniżenia LDL i zwiększenia HDL, a także ogranicza ryzyko wystąpienia chorób sercowo-naczyniowych [Vimala i in., 2011; Agarwal i in., 2012; Tang, 2015]. Światowa Fundacja Badań nad Rakiem wspólnie z Amerykańskim Instytutem Badań Nad Rakiem wskazuje na występowanie związku między spożyciem β -karotenu a rozwojem raka przełyku [Gwóźdź i Gębczyński, 2017]. Kwas chlorogenowy występujący w bulwie batata ma działanie przeciwnowotworowe i antywirusowe, a kwas kawowy pomaga w zwalczaniu nowotworów oraz wirusa HIV. Barwniki luteina i zeaksantyna mogą zapobiegać miażdżycy, niektórym nowotworom oraz chorobom oczu. Potas, występujący w bulwach batata, może wspomagać obniżenie ciśnienia krwi, a przez to zmniejszyć ryzyko choroby wieńcowej. Witamina B6 może zapobiegać chorobom serca, wylewom, depresji i bezsenności, zaś witamina C wzmacnia odporność, wspomaga gojenie się ran [Ziemska, 2014; Janda i in., 2015].

Fitosterole zawarte w bulwach obniżają stężenie cholesterolu, mogą też zmniejszyć ryzyko wystąpienia choroby nowotworowej poprzez wiązanie się z potencjalnie rakotwórczymi czynnikami w przewodzie pokarmowym.

Oprócz jadalnej bulwy korzeniowej batat ma również jadalne liście i pędy nadziemne. Z liści sporządza się napary, które są stosowane w leczeniu cukrzycy typu 2 oraz w leczeniu stanów zapalnych jamy ustnej [Feinglos i Bethel, 1999; Ludvik i in., 2002;

Hue i in., 2011]. Liście batata zdaniem Karna i in. [2011] używane są do leczenia przerostu gruczołu krokowego. Liście batata zawierają liczne, niezbędne składniki mineralne i odżywcze, takie jak: Ca, P, Mg, Na, K, S, Fe, Cu, Zn, Mn, Al i Se (tabela 1). Pod tym względem są porównywalne ze szpinakiem. Poziom żelaza, wapnia i karotenów plasuje batata wśród najlepszych warzyw. Liście słodkiego ziemniaka są również bogate w białko, witaminy, a zwłaszcza w witaminę B, witaminę A [Islam, 2006; 2018].

W liściach batata występują też kwasy tłuszczowe (tabela 1). Jednonienasycone kwasy tłuszczowe, występujące w tej części rośliny, powodują zmniejszenie stężenia tzw. „złego” cholesterolu (LDL) [Navas i Carrasquero, 1999; An i in., 2003; Sawicka i in., 2000; 2004]. Dzięki temu mają ochronny wpływ na ścianę tętnic i zmniejszają ryzyko wystąpienia miażdżycy [Feinglos i Bethel, 1999]. Chakrabarti i Rajagopalan [2002] wykazali bowiem, że zastąpienie kwasów tłuszczowych nasyconych przez jednonienasycone lub wielonienasycone powoduje obniżenie poziomu cholesterolu całkowitego oraz cholesterolu LDL w surowicy krwi. Ponadto kwasy tłuszczowe jednonienasycone nie obniżają zawartości cholesterolu HDL i nie wpływają na poziom w niej trójglicerydów [Ludvik i in., 2002]. Wielonienasycone kwasy tłuszczowe, zawarte w nadziemnych częściach tej rośliny, takie jak kwas linolowy (omega 6) i α -linolenowy (omega 3) muszą być dostarczone z pokarmem, gdyż są niezbędne do prawidłowego rozwoju młodych organizmów i zachowania zdrowia osób dorosłych. Poza funkcją budulcową wykorzystywane są również do tworzenia prostaglandyn (hormonów tkankowych), wpływających na czynności układu krążenia, trawienie i wiele innych procesów. Powodują obniżenie stężenia cholesterolu, wpływają również na zmniejszenie agregacji płytek krwi, przez co zapobiegają powstawaniu zakrzepów i miażdżycy [Feinglos i Bethel, 1999].

Badania Islam [2018] oraz Wang i in. [2016] dowiodły, że liście słodkich ziemniaków zawierają ponadto liczne polifenole, a mianowicie antocyjany i kwasy fenolowe, takie jak: kofeina, kwasy chlorogenowe, kwasy dikawoilochinowy i trikawoilochinowy. Kompozycje polifenoli w liściach batata stanowią co najmniej 15 antocyjanin i 6 związków polifenolowych. Te związki, biologicznie czynne posiadają wielopłaszczyznowe działanie, w tym antyoksydacyjne, antymutagenne, przeciwzapalne i przeciwnowotworowe. Antocyjany te są typu acylowanej cyjanidyny i peonidyny. Kwasy fenolowe składają się zaś z kwasu kawowego i 5 rodzajów pochodnych kwasu kawoilochinowego [Tan, 2015]. Polifenole zawarte w liściach batata wykazują różne funkcje fizjologiczne, w tym aktywność wychwytywania wolnych rodników, aktywność antymutagenną, działanie przeciwnowotworowe, przeciwcukrzycowe i przeciwbakteryjne *in vitro* lub *in vivo*, co może być pomocne w profilaktyce oraz leczeniu wielu chorób i schorzeń [Islam, 2006; 2018].

Tabela 1. Wartość odżywcza liści i bulw *Ipomoea batatas* [USDA, 2018]

Składniki	Jednostki	Wartość na 100 g liści	Wartość na 100 g bulw
Składniki podstawowe			
Woda	g	87,96	77,28
Energia	kcal	35,00	86,00
Białko	g	4,00	1,57
Tłuszcz ogółem	g	0,30	0,05
Popiół	g	1,36	1,86
Włókno strawne (dietetyczne)	g	2,00	3,00
Cukry	g	1,1	4,18
Składniki mineralne			
Ca	mg	37,00	30,00
Fe	mg	1,01	0,61
Mg	mg	61,00	25,00
P	mg	94,00	47,00
K	mg	518,00	337,00
Na	mg	9,00	55,00
Zn	mg	0,29	0,30
Cu	mg	0,037	0,09
Mn	mg	0,256	0,04
Se	µg	0,90	0,00
Witaminy			
Witamina C, całkowity kw. askorbinowy	mg	11,00	2,4
Tiamina	mg	0,156	0,078
Ryboflawina (Witamina B ₂)	mg	0,345	0,061
Niacyna	mg	1,130	0,557
Kwas pantotenowy	mg	0,225	0,209
Witamina B ₆	mg	0,190	0,209
Folacyna, ogółem	mcg	80,00	11,00
Folacyna (witamina B ₉)	mcg	80,00	0,00
Folacyna DFE	mcg	80,00	0,00
Witamina A	IU	1028	14187
Witamina A, RAE	mcg	51	709
Witamina E (alfatokoferol)	mcg	0,00	0,26
Witamina K	mcg	0,00	1,80
Lipidy			
<i>kwasy tłuszczowe całkowite, nasycone</i>	g	0,065	0,033
16:0 kwas palmitynowy	g	0,059	0,015
18:0 kwas stearynowy	g	0,006	0,018
<i>Kwasy tłuszczowe jednonienasycone</i>	g	0,012	0,019
18:1 kwas oleinowy	g	0,012	0,005
<i>Kwasy tłuszczowe wielonienasycone</i>	g	0,134	0,014
18:2 kwas linolowy	g	0,113	0,011
18:3 kwas linolenowy	g	0,021	0,003

Możliwości zastosowania kulinarnego i sprzedaży produktów opartych na bazie batata

Według Tana [2008; 2015] batat można spożywać po ugotowaniu, usmażeniu lub upieczeniu. Po pokrojeniu na plastry, wysuszeniu i zmieleniu z bulw batata otrzymuje się mąkę, która nadaje się do spożycia przez długi czas [Padmaja i in., 2012]. W Indonezji, przed suszeniem, bulwy moczy się w słonej wodzie przez około godzinę, po to aby zapobiec rozwojowi mikroorganizmów. Mąkę wykorzystuje się jako polepszacz ciasta w produkcji chleba i jako stabilizator w produkcji lodów. Batat, podobnie jak ziemniak, jest surowcem do produkcji chipsów, obecnie popularnych w krajach Azji [Islam, 2006; Tan, 2008; 2015]. W Chinach bardzo popularne są chipsy z bulw batata, które posypuje się cukrem, w Stanach Zjednoczonych solą, natomiast w Bangladeszu aprobatę konsumentów uzyskały chipsy przyprawiane pieprzem cayenne i kwasem cytrynowym [Tan, 2015]. Z batata wytwarza się także skrobię w podobny sposób, jak z innych skrobiowych surowców korzeniowych z tą różnicą, że zawiesinę alkalizuje się (pH 8,6) z użyciem wapna, co umożliwi flokulację zanieczyszczeń i rozpuszczenie barwników. Pod względem lepkości i innych cech charakterystycznych, skrobia z batata wykazuje właściwości pośrednie pomiędzy ziemniaczaną i kukurydzianą. Batat według badań Islam [2006] jest podstawowym surowcem roślinnym na Bliskim Wschodzie, w Chinach oraz Filipinach, gdzie stanowi podstawowy składnik najbardziej popularnych, codziennych potraw.

Podsumowanie

W ostatnich latach batat ze względu na wyjątkowe właściwości odżywcze i funkcjonalne stał się przedmiotem wielu badań naukowych. Zawarte w bulwach i liściach węglowodany, białka, lipidy, karotenoidy, antocyjany, związki mineralne stanowią cenne składniki odżywcze, zaś unikalna kompozycja tych składników przyczynia się do różnych korzyści zdrowotnych, takich jak: działanie przeciwutleniające, hepatoprotekcyjne, przeciwzapalne, przeciwnowotworowe i przeciwcukrzycowe. Dlatego też biorąc pod uwagę współczesne oczekiwania konsumentów dotyczące żywienia i zdrowia wydaje się być konieczne rozpowszechnianie wiedzy na temat wartości prozdrowotnych tego gatunku, który może być podstawą do tworzenia nowych produktów, wzbogacających ofertę żywności funkcjonalnej.

Literatura

1. Agarwal A., Aponte-Mellado A., Premkumar B.J., Shaman A., Gupta S. (2012). The effects of oxidative stress on female reproduction: a review. *Reproductive Biology and Endocrinology*, 10(1), 49.

2. Allen J.C., Corbitt A.D., Maloney K.P., Masood S., Butt M.S., Van-Den Truong. (2012). Glycemic index of sweet potato as affected by cooking methods. *The Open Nutrition Journal*, 6, 1-11.
3. An L.V., Frankow-Lindberg B.E., Lindberg J.E. (2003). Effect of harvesting interval and defoliation on yield and chemical composition of leaves, stems and tubers of sweet potato (*Ipomoea batatas* (L) Lam.) cultivars. *Field Crops Research*, 82(1), 49-58.
4. Antia B.S., Akpan E.J., Okon P.A., Umoren I.U. (2006). Nutritive and anti-nutritive evaluation of sweet potato leaves (*Ipomoea batatas*). *Pakistan Journal of Nutrition*, 5(2), 166-168.
5. Austin D.F. (1987). The taxonomy, evolution and genetic diversity of sweet potato and related absence of viruses in most symptomless field grown sweet potato in Uganda. *Annals of Applied Biology*, 130, 481-490.
6. Bołonkowska O., Pietrosiuk A., Sykłowska-Baranek K. (2011). Roślinne związki barwne i ich właściwości biologiczne oraz możliwość wytwarzania w kulturach *in vitro*. *Biuletyn Wydziału Farmaceutycznego, Warszawski Uniwersytet Medyczny*, 1, 1-27.
7. Chakrabarti R., Rajagopalan R. (2002). Diabetes and insulin resistance associated disorders: Disease and the therapy. *Current Science*, 83(12), 1533-1538.
8. Feinglos M.N., Bethel M.A. (1999). Therapy of type 2 diabetes, cardiovascular death, and the UGDP. *American Heart Journal*, 138(5), 346-352.
9. Gwóźdź E., Gębczyński P. (2017). Owoce pomidora źródłem. *Medycyna Rodzinna*, 20(3), 211-214.
10. Hotz Ch., Loechl C., Lubowa A., Tumwine J.K., Ndeezi G., Masawi A., Baingana R., Carriquiry A., De Brauw A., Meenakshi J. V., Gilligan D.O. (2012). Introduction of beta-carotene-rich orange sweet potato in rural Uganda resulted in increased vitamin A intakes among children and women and improved vitamin A status among children. *Journal of Nutrition*, 142, 1871-1880.
11. Hue S.M., Boyce A.N., Somasundram C. (2011). Comparative study on the antioxidant activity of leaf extract and carotenoids extract from *Ipomoea batatas* var. Oren (Sweet potato) Leaves. *World Academy Science Engineering Technology*, 58, 584-7.
12. Islam S. (2006). Sweet potato (*Ipomoea batatas* L.) leaf: Its potential effect on human health and nutrition. *Journal of Food Science*, 71(2), R13-R121.
13. Islam S. (2018). Sweet potato (*Ipomoea batatas* L.) leaf: Its potential effect on human health and nutrition. Available from: https://www.researchgate.net/publication/229459560_Sweetpotato_Ipomoea_batatas_L_Leaf_Its_Potential_Effect_on_Human_Health_and_Nutrition (dostępność: 18.05.2018).
14. Janda K., Kasprzak M., Wolska J. (2015). Witamina C – budowa, właściwości, funkcje i występowanie. *Pomeranian Journal of Life Science*, 61(4), 419-425.
15. Karna P., Gundala S.R., Gupta M.V., Shamsi S.A., Pace R.D., Yates C., Narayan S., Aneja R. (2011). Polyphenol rich sweet potato greens extract inhibits proliferation and induces apoptosis in prostate cancer cells *in vitro* and *in vivo*. *Carcinogenesis*, 32, 1872-80.
16. Katayama K., Komaki K., Tamiya S., Takayanagi K. (1999). Varietal and geographical differences in amylase content in sweet potato, *Ipomoea batatas* (L.) Lam. *Japanese Journal of Tropical Agriculture*, 234(3), 467-473.
17. Krochmal-Marczak B., Sawicka B. (2006). Zmienność fenotypowa cech *Ipomoea batatas* (L.) Lam. ważnych z punktu widzenia gospodarczego i wartości biologicznej surowca. *Mat. Konf. Nauk. nt.: Przyrodnicze uwarunkowania produkcji roślinnej*. Warszawa, SGGW, 23-24.06., 183-184.
18. Krochmal-Marczak B., Sawicka B. (2007). Zmienność wybranych cech *Ipomoea batatas* L. [Lam.] w warunkach Polski. *Zesz. Probl. Postępy Nauk Rolniczych*, 517(2), 447-457.
19. Krochmal-Marczak B., Sawicka B. (2009). Efektywność uprawy *Ipomoea batatas* [L.] Lam. pod osłonami z folii polietylenowej i włókniny polipropylenowej zakładanymi „na płask”. *Zesz. Probl. Postępy Nauk Rolniczych*, 542, 261-270.
20. Krochmal-Marczak B., Sawicka B. (2015). Wpływ właściwości genetycznych na wartość zdrowotną bulw słodkiego ziemniaka (*Ipomoea batatas* L. [Lam]). *Herbalism*, 1(1), 66-75.
21. Krochmal-Marczak B., Sawicka B., Słupski J., Cebulak T., Paradowska K. (2014). Nutrition value of the sweet potato (*Ipomoea batatas* (L.) Lam) cultivated in south – eastern Polish conditions. *International Journal of Agronomy and Agricultural Research (IJAAR)*, 4(4), 169-178.
22. Kusano T. (2005). Production of mouse adiponectin, an anti-diabetic protein, in transgenic sweet potato plants, *Journal Plant Physiology*, 162, 1169-1176.

23. Lim S., Xu J., Kim J., Chen T-Y., Su X., Standard J., Wang W. (2013). Role of anthocyanin-enriched purple-fleshed sweet potato p40 in colorectal cancer prevention. *Molecular Nutrition & Food Research*, 57(11), 1908-1917.
24. Low J., Arimond M., Osman N., Cunguara B., Zano F., Tschirley D. (2007). A food-based approach introducing orange-fleshed sweet potatoes increased vitamin an intake and serum retinol concentrations in young children in rural Mozambique. *American Society for Nutrition Journal Nutrition*, 137, 1320-1327.
25. Ludvik B, Neuffer B, Pacini G. (2004). Efficacy of *Ipomoea batatas* (Caiapo) on diabetes control in type 2 diabetic subjects treated with diet. *Diabetes Care*, 27, 436-440.
26. Ludvik B.H., Mahdjoobian K., Waldhaeusl W., Hofer A., Prager R., Kautzky-Willer A., Pacini G. (2002). The effect of *Ipomoea batatas* (Caiapo) on glucose metabolism and serum cholesterol in patients with type 2 diabetes. *Diabetes Care*, 25, 239-240.
27. Masaki H. (2010). Role of antioxidants in the skin: anti-aging effects. *Journal of Dermatological Science*, 58(2), 85-90.
28. Matimati I., Hungwe E., Murungu E.S. (2005). Vegetative growth and tuber yields of micropropagated and farm-retained sweet potato (*Ipomoea batatas*) cultivars. *Journal of Agronomy*, 4(3), 156-160.
29. Mohanraj R., Sivasankar S. (2014). Sweet Potato (*Ipomoea batatas* (L.) Lam). *Journal of Medicinal Food*, 17(7), 733-741.
30. Navas P.B., Carrasquero A. (1999). Chemical characteristics of potato (*Ipomoea batatas*) var. Carolina flour. *Revista de la Facul. de Agro. Univer. del Zulia*, 16(1), 11-18.
31. National Nutrient Database for Standard Reference Legacy Release April, 2018. Software developed by the National Agricultural Library v.3.9.4.1 2018-06-11
32. Padmaja G., Sheriff J.T., Sajeev M.S. (2012). Food uses and nutritional benefits of Sweet Potato. *Fruit, Vegetable and Cereal Science and Biotechnology*, 6 (Special Issue), 115-123.
33. Perera C.O., Yen G.M. (2007). Functional properties of carotenoids in human health. *International Journal Food Properties*, 10, 201-230.
34. Sawicka B., Michałek W., Pszczółkowski P., Danilčenko H. (2018). Variation in productivity of sweet potato (*Ipomoea batatas* L. [Lam.]) under different conditions of nitrogen fertilization. *Zemdirbyste-Agriculture*, 105(2), 149-158.
35. Sawicka B., Pszczółkowski P., Krochmal-Marczak B. (2004). Jakość bulw *Ipomoea batatas* [L.] Lam. uprawianych w warunkach nawożenia azotem. *Annales Universitatis Mariae Curie-Skłodowska. Sectio D: Medicina*, 59(3), 1223-1232.
36. Sawicka B., Pszczółkowski P., Mikos-Bielak M. (2000). Biologiczna wartość bulw *Ipomoea batatas* (L.) Lam. w warunkach Lubelszczyzny. *Rocz. AR w Poznaniu*, 323 (31/1), Ogrodnictwo, 453-457.
37. Sun H., Mu T., Xi L., Zhang M., Chen J. (2014) Sweet potato (*Ipomoea batatas* L.) leaves as nutritional and functional foods. *Food Chemistry*, 156, 380-389.
38. Tan S.L. 2015. Sweet potato – *Ipomoea batatas* – a great health food. *Utar Agriculture Science Journal*, 1(3), 15-28.
39. Tan, S L. (2008). Sweet potato as a staple food crop: opportunities and challenges. *Journal Science and Technology in the Tropics*, 4, 5-12.
40. Tang Y., Cai W., Xu B. (2015). Profiles of phenolics, carotenoids and antioxidative capacities of thermal processed white, yellow, orange and purple sweet potatoes grown in Guilin, China. *Food Science and Human Wellness*, 4(3), 123-132.
41. USDA National Nutrient Database for Standard Reference, Release 20, (2018), <http://www.nal.usda.gov/fnic/foodcomp/search> (dostępność: 25.05.2018)
42. Vimala, B. Nambisan B., Hariprakash B. (2011). Retention of carotenoids in orange-fleshed sweet potato during processing. *Journal of Food Science and Technology*, 48(4), 520-524.
43. Wang S., Nie S., Zhu F. (2016). Chemical constituents and health effects of sweet potato. *Food Research International*, 89(1), 90-116.
44. Yang G., Jeong-Byeong C.H., Oh-Yong B., CHo-Soo Y. (1999). Breeding of new starch-processing type sweet potato variety Yushu 13 with high yield and multiresistance. *Journal Henan Agriculture Science*, 3, 3-5.

45. Zengin G., Locatelli H., Stefanucci A., Macedonio G., Novelino E., Mirzaie S. (2017). Antioxidant activities and polyphenols of sweet potato (*Ipomoea batatas* L.) leaves extracted with solvents of various polarities. *International Journal of Food Properties*, 20, 1907-1919.
46. Ziemska J. (2014). Witaminy B6 i B12 znaczenie dla człowieka. *Lek w Polsce*, 24(11/12), 49-53.

EWA PIATKOWSKA¹, AGNIESZKA BISZTYGA¹,
ANETA KOPEĆ¹, TERESA LESZCZYŃSKA¹

¹Katedra Żywienia Człowieka, Wydział Technologii Żywności, Uniwersytet Rolniczy w Krakowie

SKŁAD CHEMICZNY I WŁAŚCIWOŚCI PRZECIWUTLENIAJACE RÓŻNYCH ODMIAN MAKI (*LEPIDIUM PERUVIANUM* CHACON)

Wprowadzenie

Żywność funkcjonalna stanowi grupę specjalnie opracowanych produktów spożywczych, które nie tylko dostarczają koniecznych składników odżywczych tj. białek, tłuszczu, węglowodanów, witamin, makro- i mikroelementów, ale także wykazują dodatkowe funkcje, takie jak zapobieganie chorobom wynikającym ze złej diety oraz poprawiają fizyczną i psychiczną kondycję konsumentów.

Maca należy do roślin krzyżowych z rodziny *Brassicaceae* (kapustowate), rodzaju - *Lepidium* L., gatunku – *Lepidium peruvianum* Chacon (*Lepidium meyenii* Walpers, *Lepidium* sp.). Maca nazywana jest „krewniakiem rzeżuchy”, a wyglądem przypomina rzodkiewkę bądź seler. Jej jadalne części to liście i bulwiasty korzeń o dość ostrym smaku, w którym roślina magazynuje substancje odżywcze [Sawicka-Sienkiewicz, 1995; Valentová i Ulrichová, 2003]. Część podziemna maki ma 2-9 cm długości i do 6,5 cm szerokości. Barwa korzenia bywa jasnożółta, biała, ciemnoczerwona, fioletowa, czarna lub wielobarwna. Mniejsze korzenie maki posiadają przyjemniejszy smak, zaś dłuższe są bardziej włókniste i w związku z tym mają mniejszą wartość odżywczą [Prusakowski, 2000; Łowicka i in., 2004]. Maca wymaga specyficznych warunków do uprawy, ponieważ rośnie na dużych wysokościach (3500-4500 m n.p.m.), przy mocnym wietrze, intensywnym nasłonecznieniu oraz dużych amplitudach temperatur. W naturalnym środowisku *Lepidium meyeri* rozwija się w temperaturze od -1,5 do +12°C. Jest uprawiana od czasów Inków, ze względu na swoją wysoką wartość odżywczą i leczniczą. Rolnicy z andyjskich obszarów wyżynnych Peru nadal uprawiają tę roślinę ponieważ uważają, że jest ona niezwykle pomocna w przetrwaniu ekstremalnych warunków klimatycznych [Valerio i Gonzales, 2005; Zhao i in., 2012].

Właściwości prozdrowotne korzenia maki są skorelowane z obecnością w nim składników biologicznie czynnych. Maca zawiera związki polifenolowe takie jak flawonoidy, które obejmują flawonol i kwercetynę, karboliny, katechiny, prostaglandyny, antocyjany (odpowiedzialne za kolory), taniny, saponiny, garbniki, kwas jabłkowy oraz urydynę [Alzamora i in., 2007; Castaño-Corredor, 2008; Gonzales, 2010].

W roślinie znajdują się glukozynolany – heterozytowe sulfonylocyty odpowiadają za ostry i gorzki smak świeżej maki, których zawartość jest 100 razy większa od innych gatunków roślin z rodziny *Brassicaceae* (takich jak: kapusta, kalafior czy brokuł)

i zmienia się w zależności od uprawy, warunków klimatycznych i żyzności gleb. Wykryto i zidentyfikowano dziewięć glukozyolanów, przy czym najwięcej jest glukotropaeoliny i p-metoksybenzylglukozyolanu. Badania naukowe dowodzą, że często spożywane glukozyolany mogą zapobiegać rozwojowi raka piersi, prostaty, płuc i żołądka [Castaño-Corredor, 2008].

Tradycyjna medycyna stosuje makę m.in. ze względu na jej właściwości pobudzające, wspomagające w leczeniu gruźlicy. Ma działanie wzmacniające, jako środek energetyzujący – podnoszący wytrzymałość mięśni. Leczniczo stosowana jest podczas wzrostu oraz w stanach niedożywienia, ciąży, laktacji i jako środek zwiększający płodność. Obniża poziom cholesterolu, poprawia koncentrację i łagodzi stresy. Leczy zaburzenia hormonalne i przywraca kondycję fizyczną. Przeciwdziała osteoporozie, a także w wielu przypadkach eliminuje jej skutki. Wpływa na pracę mięśnia sercowego poprawiając jego wydolność. Leczy bezpłodność u mężczyzn i podwyższa potencję seksualną. Normalizuje nieregularne miesiączki, łagodzi napięcie menstruacyjne. Leczy zespoły przewlekłego zmęczenia oraz menopauzę (uderzenie gorąca, zmęczenie, zmiany nastrojów) [Prusakowski, 2000; Rybiński, 2001; Rybiński, 2002; Wright, 2002; Łowicka i in., 2004].

Składniki zawarte w *Lepidium peruvianum* Chacon zalicza się do grupy przeciwutleniaczy – hamują powstawanie wolnych rodników, chronią komórki przed stresem oksydacyjnym i indukowaną apoptozą [Cuentas i in., 2008; Castaño-Corredor, 2008]. Za takie działania odpowiedzialne są katechiny, sterole, kwercetyna, antocyjany, witaminy C i E [Leiva-Revilla i in., 2014; Sifuentes-Penagosi in., 2015]. Badania wykonywane przez Bai i in. [2015] na ludzkich liniach komórek nowotworowych wyizolowanych z gruczołaka jelita grubego, na liniach komórek białaczki szpikowej i nowotworów wątroby wykazały, że związki czynne maki, takie jak flawonolignany, glukozyolany oraz flawonoidy, wykazują właściwości przeciwnowotworowe i chemoprewencyjne.

Lepidium peruvianum występuje również na rynku jako wyrób farmaceutyczny w formie kapsułek, drażetek, tabletek oraz proszku. Roślina została także wykorzystywana przez NASA w diecie astronautów, aby wspomóc zachowanie doskonałej kondycji fizycznej, czujności i refleksu [Guijarro, 2011].

Maca znalazła także zastosowanie w przemyśle kosmetycznym. Jest używana przy przygotowywaniu szamponów, odżywek, naparów do wzmacniania zniszczonych włosów, zarówno dla mężczyzn jak i dla kobiet. Ekstrakt z żółtej maki może być też dodawany do kremów zarówno do twarzy, ciała, jak i kremów z filtrem przeciwsłonecznym [Gonzales-Arimborgo i in., 2016].

Celem pracy było oznaczenie składu chemicznego oraz właściwości przeciwutleniających różnych odmian maki (*Lepidium peruvianum* Chacon) pochodzących ze zbiorów z 2016 roku.

Materiał i metody

Materiał badawczy stanowiły próbki sproszkowanych, suszonych, jadalnych korzeni rośliny o nazwie *Lepidium peruvianum* Chacon, zebrane w 2016 roku, sprowadzone z Peru, gdzie były uprawiane w warunkach naturalnych, o różnych barwach korzenia:

- yellow,
- purple,
- black,
- red.

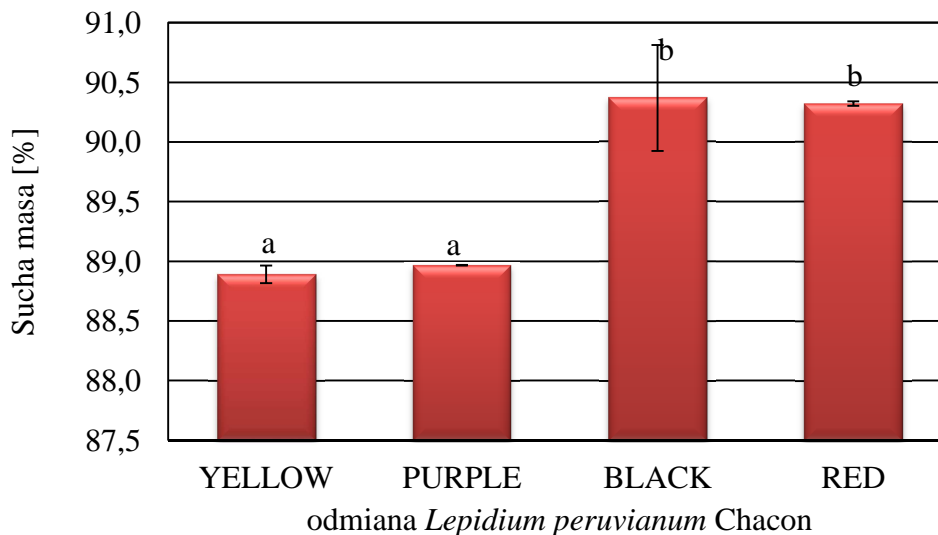
Wykonano oznaczenia zawartości suchej masy, białka, tłuszczu, popiołu i błonnika pokarmowego metodami AOAC [2006], natomiast zawartość węglowodanów ogółem wyliczono z różnicy poszczególnych składników odżywczych.

Sporządzono dodatkowo ekstrakty metanolowe, wykorzystane do oznaczenia zawartości polifenoli ogółem metodą Follin-Ciocalteu [Swain i Hillis, 1959], a zdolność wygaszania wolnych rodników oznaczono metodą z wykorzystaniem kationorodnika ABTS^{•+} [Re i in., 1999].

Każde oznaczenie wykonano w dwóch powtórzeniach. Wszystkie dane dotyczące badanych parametrów poddano analizie statystycznej z wykorzystaniem jednoczynnikowej analizy wariancji ANOVA (Statistica 13.1). Istotność różnic pomiędzy średnimi oceniono testem Duncana, przy poziomie istotności $p \leq 0,05$.

Wyniki i dyskusja

Oznaczona zawartość suchej masy w wysuszonej i sproszkowanej roślinie mieści się w zakresie od 88,89-90,37%. Z przeprowadzonej analizy wynika, że największą ilością suchej masy charakteryzuje się odmiana black – 90,37%, następnie red – 90,32%, purple – 88,97%, zaś najmniejszą yellow – 88,89%. Jednak zawartość suchej masy w odmianach black i red nie różni się istotnie statystycznie. Brak różnic statystycznych odnotowano także w przypadku zawartości suchej masy w odmianach yellow i purple (wykres 1).

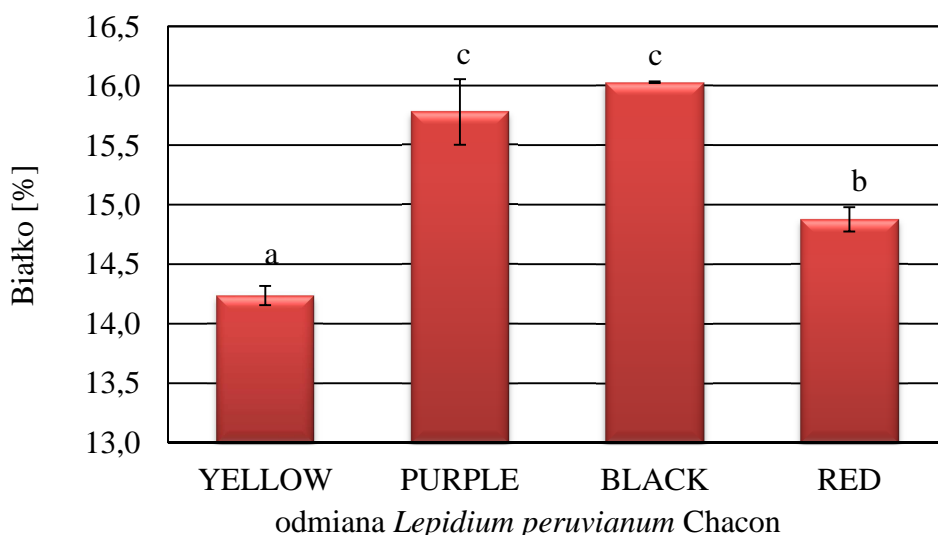


Wykres 1. Średnia zawartość suchej masy w różnych odmianach *Lepidium peruvianum* Chacon; (a,b) – wartości średnie oznaczone różnymi literami różnią się statystycznie istotnie przy $p \leq 0,05$

Część jadalna świeżej maki zawiera w swoim składzie głównie wodę (80%) [Dini i in., 1994]. Wysuszone 100 g hipokotyli (najniższa część łodygi) dostarcza około 380 kcal. Badania Prusakowskiego [2000] oraz Li i in. [2001] również wykazują, że świeże bulwy maki zawierają około 80% wody, co oznacza około 20% suchej masy; natomiast w korzeniach suszonych sposobem naturalnym znajduje się do 10,4% wody, czyli do 89,6% suchej substancji.

Oznaczony poziom białka w wysuszonej roślinie mieści się w zakresie od 14,24%-16,03%. Z przeprowadzonej analizy wynika, że największą wartość białka zawiera odmiana black – 16,03%, następnie purple – 15,78%, red – 14,88% najmniej zaś yellow – 14,24%, jednak w przypadku odmian purple i black nie stwierdzono różnic istotnych statystycznie (wykres 2).

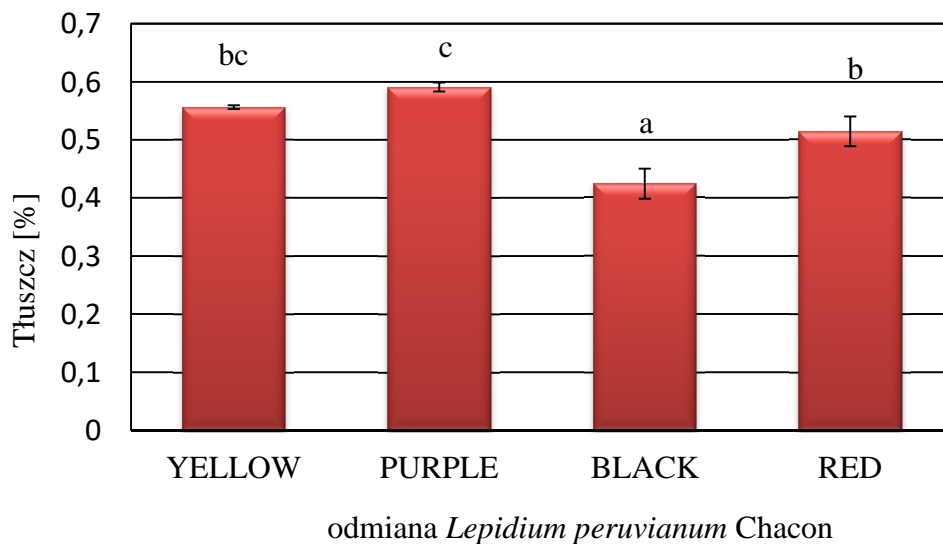
Średnia zawartość białka w mace mieści się w granicach 10,0-16,0% [Dini i in., 1994]. W badaniach przeprowadzonych przez Lobatón [2003] średnia zawartość białka w *Lepidium peruvianum* Chacon wahała się w granicach 10,10-18,25%. W badaniach Castaño-Corredor [2008] wykazano, że zawartość białka w roślinie wahała się między 8,87% a 11,60%. Zaś 11,90% białka zawierały rośliny w analizach przeprowadzonych przez Guevara i in. [2016]. Z przeprowadzonych analiz wynika, że badana w niniejszej pracy maca jest rośliną o dużej zawartości białka.



Wykres 2. Średnia zawartość białka w różnych odmianach *Lepidium peruvianum* Chacon (a,b,c) – wartości średnie oznaczone różnymi literami różnią się statystycznie istotnie przy $p \leq 0,05$

W badaniach Castaño-Corredor [2008] podano, że *Lepidium peruvianum* zawiera 18 aminokwasów, które są istotne i ważne z punktu widzenia żywieniowego, a ich ilość i jakość jest porównywalna do aminokwasów znajdujących się w mleku, wołowinie, mleku kobiecym, jajach czy rybach.

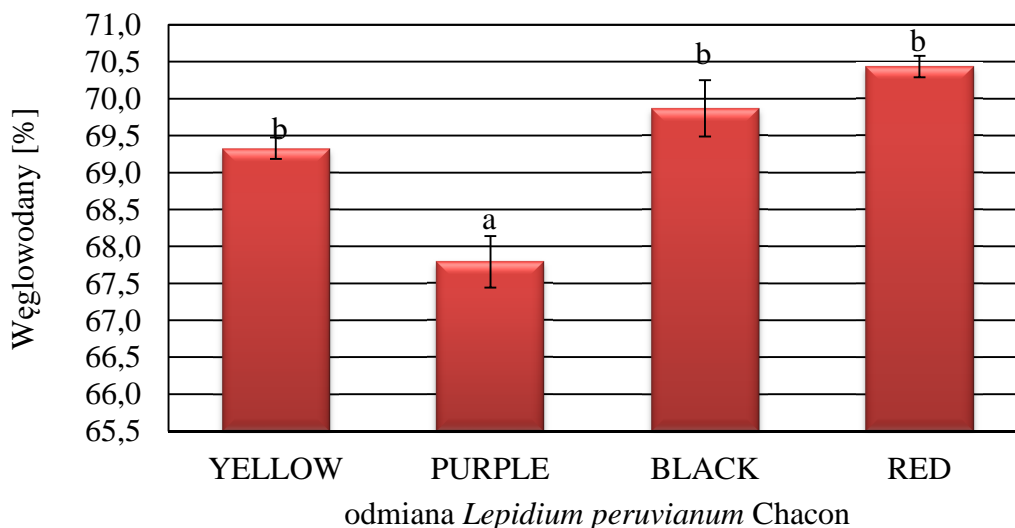
Badana roślina charakteryzuje się bardzo niską zawartością tłuszczu w wysuszonych i sproszkowanych korzeniach. Z przeprowadzonej analizy wynika, że największą wartość tłuszczu zawiera odmiana purple *Lepidium peruvianum* Chacon – 0,59%, następnie yellow – 0,56%, red – 0,51%, zaś najmniej black – 0,42%. Istotności statystycznej nie stwierdza się w wynikach zawartości tłuszczu dla odmian yellow oraz purple, a także yellow oraz red (wykres 3).



Wykres 3. Średnia zawartość tłuszczu w różnych odmianach *Lepidium peruvianum* Chacon; (a,b,c) – wartości średnie oznaczone różnymi literami różnią się statystycznie istotnie przy $p \leq 0,05$

Maca w analizie Dini i in. [1994] zawierała 2,2% tłuszczu. W badaniach przeprowadzonych przez Lobatón [2003] średnia zawartość tłuszczu w mace waha się w granicach 0,20-2,20%. Castaño-Corredor [2008] wykazała zawartość tłuszczu w badanych korzeniach maki między 1,09% a 2,20%. Zaś bardzo dużą ilość tłuszczu (2,70%) zawierały rośliny w analizach przeprowadzonych przez Guevara i in. [2016].

Lepidium peruvianum Chacon charakteryzuje się bardzo małą ilością tłuszczów, z których 52,7% stanowią korzystne z punktu widzenia żywieniowego nienasycone kwasy tłuszczowe, zaś ilość kwasów tłuszczowych nasyconych to 40,1% [Dini i in., 1994]. Jest źródłem kwasu linolowego (omega-6), oleinowego (omega-9) oraz palmitynowego.

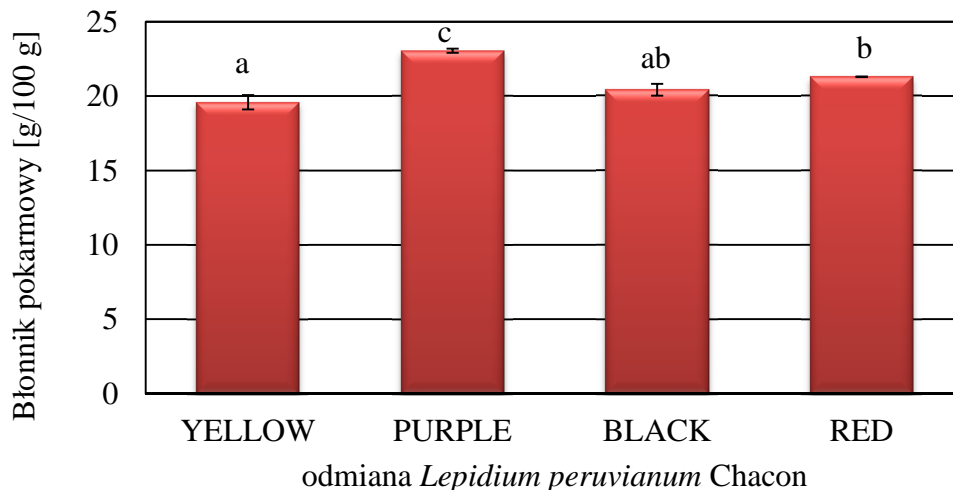


Wykres 4. Średnia zawartość węglowodanów w różnych odmianach *Lepidium peruvianum* Chacon; (a,b) – wartości średnie oznaczone różnymi literami różnią się statystycznie istotnie przy $p \leq 0,05$

Z przeprowadzonej analizy wynika, że największą zawartością węglowodanów charakteryzuje się odmiana red *Lepidium peruvianum* Chacon – 70,43% , następnie black – 69,87%, yellow – 69,33%, zaś najmniej purple – 67,79%, jednak różnic statystycznych nie stwierdzono pomiędzy odmianami yellow, black i red (wykres 4).

Średnia zawartość węglowodanów w suchej mace wynosi 59,0% [Dini i in., 1994]. W badaniach przeprowadzonych przez Lobatón [2003] średnia zawartość wahała się w granicach 51,81-76,05%. Castaño-Corredor [2008] wykazała w badanych przez siebie roślinach zawartość węglowodanów między 54,60% a 60,00%. Zawartość cukrów w mace na poziomie 55,00-75,00% wykazano pracy Guevara i in. [2016].

Z przeprowadzonej analizy wynika, że największą zawartością błonnika pokarmowego charakteryzuje się odmiana purple – 23,06 g/100 g, następnie red – 21,30 g/100 g, niewiele mniej odmiana black – 20,43 g/100 g, zaś najmniej yellow – 19,58 g/100 g. Istotności statystycznej nie stwierdza się między odmianami yellow oraz black, a także black oraz red (wykres 5).

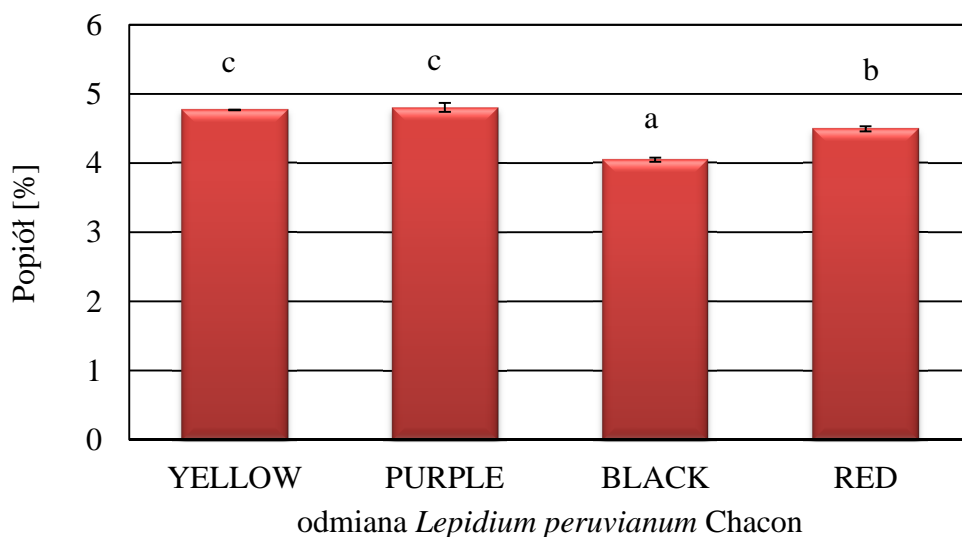


Wykres 5. Średnia zawartość błonnika pokarmowego w różnych odmianach *Lepidium peruvianum* Chacon; (a,b,c) – wartości średnie oznaczone różnymi literami różnią się statystycznie istotnie przy $p \leq 0,05$

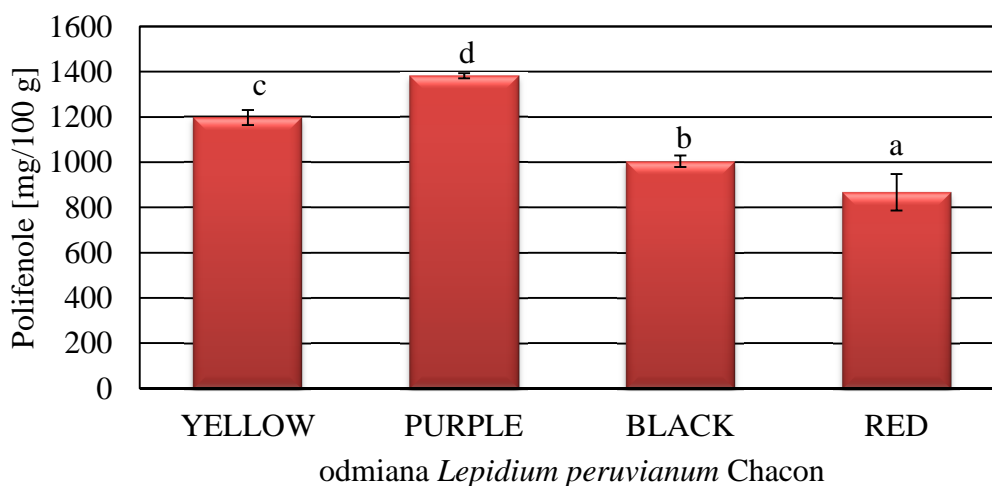
W badaniach przeprowadzonych przez Lobatón [2003] średnia zawartość błonnika pokarmowego w roślinie wahała się w przedziale 3,85-8,50%. Badania Castaño-Corredor [2008] wnoszą o zawartości błonnika pokarmowego w przedziale między 8,23% a 9,08%. Zaś mąka w analizach przeprowadzonych przez Guevara i in. [2016] zawierała 8,30% błonnika pokarmowego. Tak duże różnice pomiędzy uzyskanymi w badaniach wynikami a wynikami innych autorów mogą wynikać z analizy materiału biologicznego, który był zbierany w różnych fazach wzrostu rośliny.

W mące zawartość popiołu waha się od 4,05%-4,81%. Z przeprowadzonej analizy wynika, że największą wartość popiołu zawiera odmiana purple i yellow (odpowiednio 4,81 i 4,78% – różnice nieistotne statystycznie). Mniejsze ilości odnotowano w odmianach red (4,50%), zaś najmniej w odmianie black – 4,05% (wykres 6).

W badaniach przeprowadzonych przez Lobatón [2003] średnia zawartość popiołu waha się w granicach 3,46-6,43%. Badania Castaño-Corredor [2008] mówią o zawartości popiołu w roślinie w ilości pomiędzy 4,90% a 5,00%. Zaś 4,80% popiołu zawierały rośliny w analizach przeprowadzonych przez Guevara i in. [2016]. Przeprowadzone badania korelują z wynikami uzyskanymi w niniejszej pracy.



Wykres 6. Średnia zawartość popiołu w różnych odmianach *Lepidium peruvianum* Chacon; (a,b,c) – wartości średnie oznaczone różnymi literami różnią się statystycznie istotnie przy $p \leq 0,05$

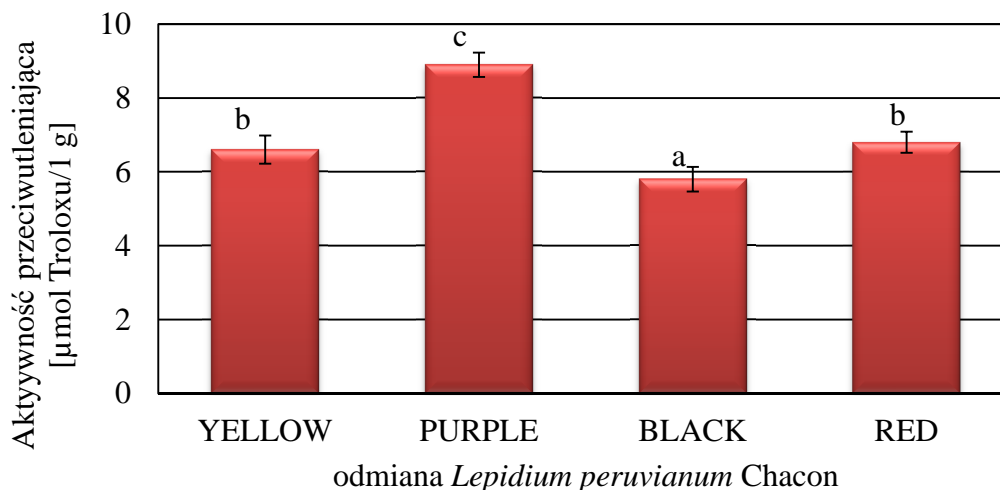


Wykres 7. Średnia zawartość polifenoli w różnych odmianach *Lepidium peruvianum* Chacon; (a,b,c,d) – wartości średnie oznaczone różnymi literami różnią się statystycznie istotnie przy $p \leq 0,05$

Z przeprowadzonej analizy wynika, że największą zawartością polifenoli, w przeliczeniu na kwas chlorogenowy charakteryzuje się odmiana purple – 1382 mg/100

g, następnie yellow – 1197 mg/100 g, black – 1004 mg/100 g, zaś najmniej red – 867 mg/100 g. Pomiędzy wszystkimi badanymi odmianami *Lepidium peruvianum* Chacon stwierdza się różnice istotnie statystyczne w zawartości badanego parametru (wykres 7).

Lepidium peruvianum Chacon wykazuje działanie ochronne, które może być związane z dużą zawartością polifenoli, takich jak kwercetyna i antocyjany w roślinie [Rubio i in., 2011].



Wykres 8. Aktywność przeciwutleniająca różnych odmian *Lepidium peruvianum* Chacon; (a,b,c) – wartości średnie oznaczone różnymi literami różnią się statystycznie istotnie przy $p \leq 0,05$

Z przeprowadzonej analizy wynika, że największą zdolność eliminowania wolnego rodnika $ABTS^{\bullet+}$ wykazała odmiana purple 8,9 $\mu\text{mol Troloxu/g}$, następnie red – 6,8 $\mu\text{mol Troloxu/g}$, niewiele mniej odmiana yellow – 6,6 $\mu\text{mol Troloxu/g}$, zaś najmniej black – 5,8 $\mu\text{mol Troloxu/g}$. Istotności statystycznej nie stwierdza się między odmianami yellow oraz red (wykres 8).

Właściwości prozdrowotne *Lepidium peruvianum* Chacon są zdeterminowane obecnością składników biologicznie czynnych, takich jak związki polifenolowe (flawonoidy, antocyjany) garbniki, saponiny, prostaglandyny czy alkaloidy [Valerio i Gonzales 2005].

W badaniach przeprowadzonych przez Sandovala i in. [2002] związki przeciwutleniające zawarte w wodnym ekstrakcie z maki powodowały zmniejszenie okresu półtrwania nadtlenuazotynu. Substancja ta fizjologicznie powstaje podczas przewlekłego stanu zapalnego organizmu. Uważa się, że mechanizm ten pełni ważną rolę

w ochronie DNA przed uszkodzeniami indukowanymi wolnymi rodnikami. *Lepidium meyenii* wykazuje także zdolność zmiatania wolnych rodników i hamowania powstawania nadtlenków, które pełnią istotną rolę w procesie utleniania lipidów [Sandoval i in., 2002].

W doświadczeniach na myszach i szczurach wykazano, iż ekstrakt maki przeciwdziała uszkodzeniom skóry wywołanym promieniowaniem ultrafioletowym. Największe właściwości absorpcyjne promieni ultrafioletowych, a także największą aktywność przeciwutleniającą wykazała odmiana czerwona *Lepidium peruvianum* ze względu na największą zawartość związków biologicznie czynnych, takich jak polifenole oraz glukozytolany [Gonzales-Castañeda i in., 2011].

Zawartość katechin w hipocotylu maca wykonanym na wodnym ekstrakcie wynosi 2,5 mg/g hipocotyłu. Zawartość ta świadczy o aktywności antyoksydacyjnej rośliny [Sandoval i in., 2002].

Podsumowując, skład podstawowy i właściwości przeciwutleniające maki są różne w zależności od odmiany. Najwięcej białka, ale najmniej tłuszczu zawierała odmiana black. Największą zawartością węglowodanów charakteryzowała się odmiana red. Roślina o purpurowej barwie zawierała najwięcej błonnika i popiołu i dodatkowo charakteryzowała się ona najlepszymi właściwościami przeciwutleniającymi.

Projekt został sfinansowany ze środków przyznanych na działalność statutową nr DS 3710/KŻCZ/2017

Literatura

1. Alzamora L., Solís H., Rojas M., Calderón M., Fajardo N., Quispe J., et al. (2007). Actividad leishmanicida de los extractos metanólicos de cuatro ecotipos de *Lepidium peruvianum*, Chacón (*Brassicaceae*). Rev Peru Biol 13(3), 211-214.
2. AOAC (2006). Official Methods of Analysis of AOAC International. 18th Edition, Association of Official Analytical Chemists, Gaithersburgs, MD.
3. Bai, N., He, K., Roller, M., Lai, Ch.-Sh., Bai, L., Pan, M.-H. (2015). Flavonolignans and other constituents from *Lepidium meyenii* with activities in anti-inflammation and human cancer cell lines. J. Agric. Food Chem., 63(9), 2458–2463.
4. Castaño-Corredor M.P. (2008). Maca (*Lepidium peruvianum* Chacón): composición química y propiedades farmacológicas. Revista de Fitoterapia; 8(1), 21-28.
5. Cuentas R., De la Cruz L., Hernández G., Mateo I., Castañeda C., Ibáñez L., et al. (2008). Evaluación del efecto antioxidante de hojas de *Lepidium peruvianum* Chacón, "MACA". Revista Horizonte Médico 8(1), 45-55.
6. Dini A., Migliuolo G., Rastrelli L., Saturnino P., Schettino O. (1994). Chemical composition of *Lepidium meyenii*. Food Chemistry 49: 347-349
7. Guevara Pérez A., Nolzaco Cama D., Cancino Chávez K., Oliva Cruz C. (2016). Descontaminación microbiana de la maca (*Lepidium meyenii*) aplicando el sistema de esterilización orgánica (OSS) para preservar sus propiedades nutricionales y sensoriales. Scientia Agropecuaria 7(1), 59-66
8. Gonzales GF. (2010). Maca: del alimento perdido de los incas al milagro de Los Andes. Estudio de seguridad alimentaria y nutricional. Segurança Alimentar e Nutricional, Campinas 17(1), 16-36.
9. Gonzales-Arimborgo C., Yupanqui I., Montero E., Alarcón-Yaquette DE., Zevallos-Concha A., Caballero L., et al. (2016). Acceptability, Safety, and Efficacy of Oral Administration of Extracts of Black or Red Maca (*Lepidium meyenii*) in Adult Human Subjects: A Randomized, DoubleBlind, Placebo-Controlled Study. Pharmaceuticals 49(9), 1-23.

10. Gonzales-Castañeda C., Rivera V., Chirinos A.L., Evelson P., Gonzales G. F. (2011). Photoprotection against the UVB-induced oxidative stress and epidermal damage in mice using leaves of three different varieties of *Lepidium meyenii* (maca). *Int. J. Dermatol.* 50(8), 928-938.
11. Guijarro Loaiza D.A. (2011). Proyecto de factibilidad para la producción y exportación de raíz de maca al mercado chino. Ecuador: Universidad Tecnológica Equinoccial.
12. Leiva-Revilla J., Guerra-Castañón F., Olcese-Mori P., Lozada I., Rubio J., Gonzales C., et al. (2014). Efecto de la maca roja (*Lepidium meyenii*) sobre los niveles de IFN- γ en ratas ovariectomizadas. *Rev Peru Med Exp Salud Publica* 31(4), 683-688.
13. Li G., Ammermann U., Quirós C.F. (2001). Glucosinolate contents in maca (*Lepidium peruvianum* Chacón) seeds, sprouts, mature plants and several derived commercial products. *Econ. Bot.*, 55(2), 255-262.
14. Lobatón Erazo M.E. (2003). Micronutrientes de la maca (*Lepidium meyenii* Walp.), utilidad en el tratamiento de la anemia ferropénica e hiperlipidemia. *Natura M I T I* 21(1): 1625
15. Łowicka A., Mścisz A., Mrozikiewicz P.M. (2004). *Lepidium peruvianum Chacon* (maca)-aktualny stan wiedzy. *Herba Polonica. Instytut Roślin i Przetworów Zielarskich*, 50(2), 85-93.
16. Prusakowski M. (2000). Maca siostra vilcacory. Wydawnictwo TOWER PRESS, Gdańsk.
17. Re R., Pellegrini N., Proteggente A., Pannala A., Yang M., Rice-Evans C.(1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radic. Biol. Med.*, 26 (9-10), 1231-7.
18. Rubio J., Yucra S., Gasco M., Gonzales G.F. (2011). Dose-response effect of black maca (*Lepidium meyenii*) in mice with memory impairment induced by ethanol. *Toxicol. Mech. Methods*, 21(8), 628-634.
19. Rybiński G. (2002). MACA - – siła wigoru. *Vilcacora Żyj Długo*. 10(33), 14-16.
20. Rybiński G. (2001). Na drodze poszukiwań żywności funkcjonalnej Energetyzująca maca. *Vilcacora Żyj Długo*. 11(22), 41-43.
21. Sandoval M., Okuhama N.N., Angeles F.M., Melchor V.V., Condezo L.A., Lao J., Miller M.J.S. (2002). Antioxidant activity of the cruciferous vegetable maca (*Lepidium meyenii*). *Food Chem.*, 79(2), 207-213.
22. Sawicka-Sienkiewicz E. (1995). Rejon Andów obiecującym źródłem nowych bulwiastych roślin uprawnych. *Hodowla Roślin i Nasiennictwo*. 3, 14-22.
23. Sifuentes-Penagos G., León-Vásquez S., Paucar-Menacho LM. (2015). Estudio de la maca (*Lepidium meyenii* Walp.), cultivo andino con propiedades terapéuticas. *Scientia Agropecuaria* 6(2), 131-140.
24. Swain T., Hillis W.E. (1959). The phenolic constituents of *Prunus domestica*. The quantitative analysis of phenolic constituents. *J. Sci. Food Agric.*, 10, 63-68.
25. Valentová K., Ulrichová J. (2003). *Smalanthus sonchifolius* and *Lepidium meyenii* – prospective Andean crops for the prevention of chronic diseases. *Biomed. Papers*. 147(2), 119-130.
26. Valerio Jr L.G., Gonzales G.F. (2005). Toxicological aspects of the South American herbs cat's claw (*Uncaria tomentosa*) and maca (*Lepidium meyenii*): a critical synopsis. *Toxicol. Rev.* 24(1), 1135.
27. Wright T. (2002). Korespondencja z Londynu - MACA. *Vilcacora Żyj Długo*. 8(31), 29.
28. Zhao J., Avula B., Chan M., Clément C., Kreuzer M., Khan I.A. (2012). Metabolomic differentiation of maca (*Lepidium meyenii*) accessions cultivated under different conditions using NMR and chemometric analysis. *Planta Med.*, 78(1), 90-101.

MARZENA PABICH¹, MAŁGORZATA MATERSKA¹, MONIKA STASZOWSKA-KARKUT¹¹Katedra Chemii, Wydział Nauk o Żywności i Biotechnologii, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie**PORÓWNANIE ZAWARTOŚCI SKŁADNIKÓW BIOAKTYWNYCH W NASIONACH ORAZ INNYCH CZĘŚCIACH ANATOMICZNYCH SOI**

Soja zwyczajna (*Glycine max* (L.) Merr.) jest subtropikalną rośliną jednoroczną należącą do rodziny *Bobowate*. Pochodzi z górzystych rejonów środkowych i zachodnich Chin i jest jedną z najstarszych roślin uprawnych. Obecnie uprawiana jest w wielu krajach na całym świecie ze względu na jej skład oraz korzystny wpływ na zdrowie człowieka [Szymczak i in., 2017; Martino i in., 2011]. Nasiona soi zawierają 30-42% białka o doskonałym składzie aminokwasowym (źródło białka pełnowartościowego) oraz 18-20% oleju, w przeliczeniu na suchą masę [Cho i in., 2013]. Ze względu na korzystny stosunek nienasyconych i nasyconych kwasów tłuszczowych olej sojowy jest wysoko ceniony pod względem dietetycznym. Ponadto soja zawiera wiele fitozwiązków korzystnie oddziałujących na zdrowie człowieka, są to m.in. flawonoidy, kwasy fenolowe, saponiny, fitosterole oraz witamina E [Lee i in., 2009; Lee i Cho, 2012].

Dieta bogata w soję i produkty sojowe wiązana jest ze zmniejszeniem ryzyka wystąpienia hiperlipidemii, chorób sercowo-naczyniowych, osteoporozy, raka piersi, prostaty i jelita grubego [Cho i in., 2013; Lee i in., 2017]. Z tego powodu soja oraz jej produkty zaliczane są do żywności funkcjonalnej. Konsekwencją tego jest rosnące zainteresowanie przemysłu spożywczego i farmaceutycznego tą rośliną oraz wzrost jej spożycia [Guimarães i in., 2018]. Soja dodawana jest do wielu produktów spożywczych np. pasztetów, parówek czy wędlin, ponieważ białko sojowe jest tańsze od mięsa, a znacznie podnosi wartości odżywcze produktu. Ponadto jest ona składnikiem koncentratów, sosów, pieczywa, mas cukierniczych, deserów lub lodów. Odpowiednio przetworzona soja może zastąpić mleko i produkty mięsne, przez co stanowi istotny element diety wegetariańskiej. Jest także składnikiem suplementów diety o właściwościach prozdrowotnych.

Oprócz ziaren soi w celach żywieniowych wykorzystywane są również liście. W porównaniu z pozostałymi częściami anatomicznymi rośliny zawierają one najwięcej aglikonów polifenoli. W południowych regionach Korei spożywane są one jako specjalne warzywo sezonowe lub jako osobne danie po zamarynowaniu pastą sojową [Yuk i in., 2011]. Na rynku obecna jest również soja warzywna, która w wielu krajach azjatyckich jest jednym z tradycyjnych produktów sojowych. W Chinach znana jest jako mau dou, a w Japonii jako edamame. Zasadniczo, soja warzywna to świeża soja z dużymi nasionami zebrana przed pełną dojrzałością, gdy strąki są całkowicie wypełnione, ale nadal jeszcze zielone. Soja warzywna ma słodki i przyjemny smak i może być spożywana jako

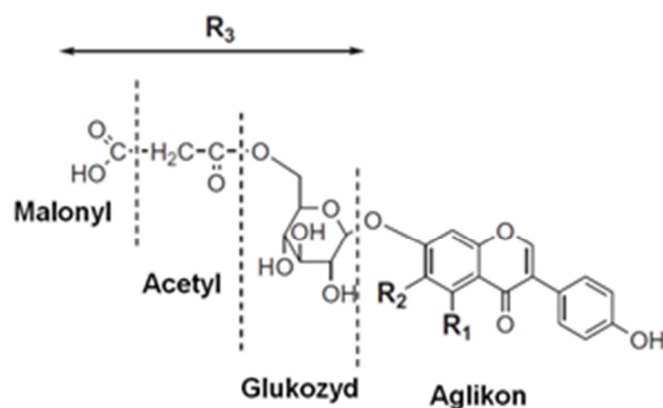
przekąska gotowana w wodzie lub pieczona. Produkcja soi warzywnej zyskuje obecnie na popularności wśród ekologicznych plantatorów, którzy celują w niszowe towary przeznaczone na specjalne rynki oraz dla ekskluzywnych restauracji [Liu i in., 2004].

W przedstawionej pracy dokonano przeglądu literatury na temat składu chemicznego różnych części anatomicznych soi. Jest to istotne z żywieniowego punktu widzenia, gdyż wiedza ta pozwala określić, które części soi mogą być używane w celach spożywczych lub farmaceutycznych.

Izoflawony

Izoflawony należą do grupy flawonoidów. Ze względu na swoją aktywność estrogenową są również znane jako fitoestrogeny [Martino i in., 2011]. Jest to grupa związków niesteroidowych o budowie i funkcji podobnej do naturalnych estrogenów, które wykazują podobieństwo w strukturze do hormonu płciowego estradiolu (17- β -estradiol). Działanie izoflawonów w porównaniu z naturalnymi estrogenami jest niewielkie (100 000 razy słabsze niż działanie estradiolu) [Wiśniewski i in., 2016]. W produktach sojowych znajdują się głównie trzy izoflawony: genisteina, daidzeina i gliciteina, które mogą występować w formie nieskoniugowanej jako aglikony oraz w formie skoniugowanej jako glikozydy (genistina, daidzina, glicitina oraz ich pochodne acetylowe i malonylowe) (Ryc. 1) [Duenas i in., 2012]. Formy związane ulegają przekształceniu na drodze hydrolizy w czynne dopiero w przewodzie pokarmowym, gdzie następnie są absorbowane poprzez komórki nabłonkowe jelita. Biodostępność izoflawonów w organizmie zależy od ich wchłaniania w przewodzie pokarmowym, a na to wpływa wiele różnych czynników: flora żołądkowo-jelitowa, stosowanie leków, a także składniki diety takie jak tłuszcz i błonnik pokarmowy [Nowak, 2011; Wiśniewski i in., 2016].

Całkowite stężenie izoflawonów w nasionach soi jest zróżnicowane i mieści się w granicach 250-9500 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ [Seguin i in., 2007]. Spośród 12 izoflawonów obecnych w nieprzetworzonych nasionach soi daidzeina i genisteina oraz ich pochodne malonylowe i glikozydowe występują w najwyższych stężeniach, natomiast gliciteina najniższych [Lee i in., 2010].



	Izoflawon	R ₁	R ₂	R ₃
Aglikon	Daidzeina	H	H	H
	Genisteina	H	OH	OH
	Glicitein	OCH ₃	H	H
Glukozyd	Daidzina	H	H	C ₆ O ₅ H ₁₁
	Genistina	H	OH	C ₆ O ₅ H ₁₁
	Glicitina	OCH ₃	H	C ₆ O ₅ H ₁₁
Acetyl	Acetylodaidzina	H	H	C ₆ O ₅ H ₁₁ +COCH ₃
	Acetylofenistina	H	OH	C ₆ O ₅ H ₁₁ +COCH ₃
	Acetyloglicitina	OCH ₃	H	C ₆ O ₅ H ₁₁ +COCH ₃
Malonyl	Malonylodaidzina	H	H	C ₆ O ₅ H ₁₁ +COCH ₂ COOH
	Malonylofenistina	H	OH	C ₆ O ₅ H ₁₁ +COCH ₂ COOH
	Malonyloglicitina	OCH ₃	H	C ₆ O ₅ H ₁₁ +COCH ₂ COOH

Rycina 1. Struktura chemiczna izoflawonów [Lee i in., 2015]

Romani i in. [2003] porównali zawartość izoflawonów w różnych częściach anatomicznych soi (łodygi, liście, korzenie i strąki). Najwyższą zawartość tych związków odnotowano w nasionach (4489,3-12653,7 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$), a następnie w korzeniach (1063,3-10203,8 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$). Zawartość w łodygach i liściach była porównywalna i wynosiła odpowiednio 488-1853 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ i 303,7-1979,8 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$. Natomiast w strąkach nie wykryto izoflawonów.

Całkowita zawartość izoflawonów różniła się w zależności od części anatomicznej nasiona i była największa w zarodku – 2887 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ a najmniejsza w łupinie nasiennej – 33 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ [Kim i in., 2007]. Całe dojrzałe nasiona czarnej soi oraz liście zawierały odpowiednio 575 i 325 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ izoflawonów. Otrzymane wyniki sugerują, że zarodki nasion soi są bardzo dobrym źródłem izoflawonów [Kim i in., 2007]. Potwierdzają to

badania przeprowadzone przez Lee i in. [2007], którzy oznaczyli zawartość izoflawonów w kielkach soi oraz poszczególnych częściach anatomicznych siewki. Zielone kielki soi zawierały średnio 1912 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ (936-2904 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) izoflawonów, a żółte 2174 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ (1355-3119 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$). Dużą zawartością badanych związków charakteryzują się również korzenie siewki oraz liścienie (Tab. 1). Najniższą zawartość izoflawonów stwierdzono w hipokotylach. Ponadto nie odnotowano istotnych różnic w całkowitym stężeniu izoflawonów pomiędzy zielonymi i żółtymi kielkami soi. Podobne wyniki badań otrzymali Kim i in. [2003]. Zawartość izoflawonów w kielkach soi wyniosła od 768 do 3343 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ (wyniki badań 30 odmian soi) i osiągnęła maksymalne stężenie w piątym dniu kiełkowania. Ponadto podczas kiełkowania zawartość aglikonów (daidzeiny i genisteiny) była znacząco podwyższona.

Tabela 1. Zawartość izoflawonów w liścieniach, hipokotylach i korzeniach siewki [$\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$] [Lee i in., 2007]

Odmiana	Liścienie		Hipokotyle		Korzenie siewki	
	Zielone kielki	Żółte kielki	Zielone kielki	Żółte kielki	Zielone kielki	Żółte kielki
Anpyungkong	3026	2237	1240	673	2421	2939
Orialtaekong	1388	2035	673	902	1510	3362
Sorokkong	2181	4188	1147	1914	1864	3255
Średnia	2167	2538	1169	1132	2399	2852

Całkowita zawartość izoflawonów w zależności od koloru łupiny nasiennej wynosiła: 490-1634,5 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ (żółta soja), 379,9-1792,7 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ (zielona soja) i 464,9-1175,5 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ (czarna soja). Nie wykazano korelacji między kolorem nasion soi a całkowitą zawartością izoflawonów [Kumar i in., 2010]. Brak takiej zależności w 268 odmianach soi różniących się kolorem nasion stwierdzili również Lee i in. [2010]. Na podstawie otrzymanych wyników badań stwierdzono, że pochodne glukozydowe i malonylowe stanowiły ponad 90% całej puli izoflawonów, a najbardziej aktywne biologicznie aglikony maksymalnie 3%. W nasionach soi z brązową skórką zawartość aglikonów była o 26% większa w porównaniu z pozostałymi nasionami. Różnice w całkowitej zawartości izoflawonów w nasionach soi o różnych barwach wynikały z uwarunkowań środowiskowych (temperatura powietrza, poziom wilgotności gleby, żyzność gleby, stężenie CO_2 , nasłonecznienie oraz obecności szkodników) i genotypowych [Seguin i in., 2007].

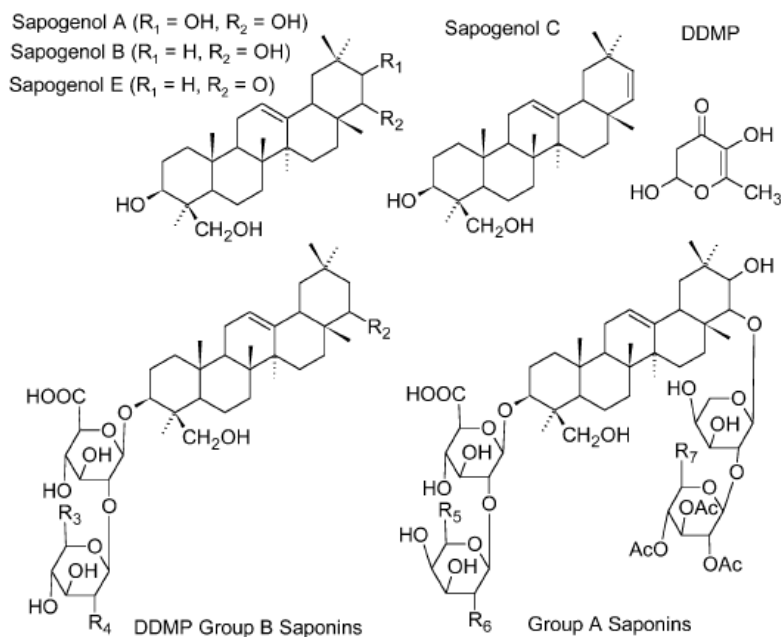
Ho i in. [2002] porównali profil flawonoidów nasion oraz liści soi i stwierdzili, że w nasionach w największej ilości występowała malonylogenistina, a następnie

w malejących ilościach malonylodaidzina, genistina, daidzina, genisteina i daidzeina. Liście zawierały tylko śladowe ilości malonylogenistiny i genisteiny, ale oznaczono w nich sześć glikozydów kemferolu, których nie znaleziono w nasionach. W związku z powyższym autorzy [Ho i in. 2002] sugerują, że w celach żywieniowych, oprócz ziaren soi, można wykorzystać również całą roślinę.

Saponiny

Saponiny pod względem chemicznym są glikozydami triterpenoidów lub steroli, tworzących tzw. aglikon, nazywany w przypadku saponin sapogeniną, podczas gdy komponent cukrowy zwany jest glikonem [Chitisankul i in., 2018]. Saponiny sojowe należą do grupy triterpenów, a w oparciu o strukturę aglikonową możemy je podzielić na cztery grupy A, B, E i DDMP. Saponiny grupy A mają grupę hydroksylową w pozycji C-21, a saponiny grupy B posiadają atom wodoru w tej pozycji. Saponiny grupy E w odróżnieniu od grup A i B mają grupę karbonylową w pozycji C-22. Saponiny grupy B mogą zawierać 2,3-dihydro-2,5-dihydroksy-6-metylo-4H-piran-4-on (DDMP) w pozycji C-22 i wtedy są oznaczone jako saponiny DDMP (Ryc. 2). Saponiny DDMP i acetylowane sojasaponiny z grupy A są czasami uważane za autentyczne formy grupy A i B w soi. Natomiast saponiny grupy E są uważane za produkty fitooksydacji saponin grupy B.

Związki te wykazują liczne działania prozdrowotne: przeciwnowotworowe, hepatoprotekcyjne, przeciwutleniające, antywirusowe oraz wpływają ochronnie na układ sercowo-naczyniowy. Ponieważ saponiny sojowe są słabo wchłaniane ich bioaktywność może być spowodowana pośrednimi działaniami w obrębie przewodu pokarmowego. Ich wpływ na zdrowie w dużej mierze zależy od struktur chemicznych saponin [Kang i in., 2010]. Acetylowane saponiny grupy A są głównie odpowiedzialne za niepożądany gorzki i cierpki smak. Saponiny grupy DDMP mogą wykazywać liczne działania prozdrowotne, np. obniżenie poziomu cholesterolu poprzez hamowanie jego wchłaniania [Chitisankul i in., 2018].



Rycina 2. Struktura chemiczna saponin [Berhow i in., 2006]

Nasiona soi zawierają od 0,6 do 6,5 g·100 g⁻¹ suchej masy saponin, ale ta wartość może się znacznie różnić w zależności od odmiany, roku, lokalizacji uprawy oraz stopnia dojrzałości [Shiraiwa i in., 1991; Berhow i in., 2006]. Berhow i in. [2006] oznaczyli całkowite stężenie saponin w zakresie od 4730 do 5750 µg·g⁻¹ w całych nasionach soi i od 5860 do 6580 µg·g⁻¹ w odtłuszczonej mące sojowej. Odnotowali oni, że we wszystkich analizowanych próbkach saponina I (należąca do grupy B) występowała w największej ilości ze wszystkich oznaczanych rodzajów (była dominującą formą saponin). Ponadto porównali oni zawartość saponin w poszczególnych częściach anatomicznych nasion i stwierdzili, że łupiny nasienne zawierały ich śladowe ilości, natomiast najwyższe stężenia saponin zanotowali w zarodkach – 68600 µg·g⁻¹. Potwierdzili również, że wszystkie formy saponin grupy A znajdowały się w zarodkach, a saponiny grupy B występowały w porównywalnych ilościach w liścieniach i zarodkach.

Inne składniki bioaktywne

Nasiona soi charakteryzują się wysoką zawartością białka, dzięki czemu dostarczają niezbędnych aminokwasów i azotu ludziom i zwierzętom [Liu, 1997; Nowak, 2011]. Głównymi składnikami białek sojowych są białka magazynujące znane jako β-konglicynina (7S) i glicyna (11S), które stanowią 65% do 80% wszystkich białek

nasion. Ponadto, soja zawiera inhibitory proteaz, lektyn i enzymów (takich jak lipooksygenaza i ureaza) [Martino i in., 2011].

Skład aminokwasowy białka sojowego w znacznym stopniu odpowiada zapotrzebowaniu człowieka na poszczególne aminokwasy. Ze względu na wysoką zawartość lizyny, soja może być stosowana w dietach opartych na zbożach, które są ubogie w ten aminokwas [Nowak, 2011]. Dodatkowym walorem żywieniowym białka sojowego jest uwalnianie się z niego biologicznie czynnych peptydów podczas trawienia w przewodzie pokarmowym. Związki te mają charakter nutraceutyków, a dzięki znacznej termostabilności pozostają też w produktach poddanych obróbce termicznej. Omawiane peptydy chronią przed otyłością i nadciśnieniem, obniżają poziom cholesterolu we krwi, wykazują działanie przeciwutleniające, przeciwnowotworowe i przeciwcukrzycowe [Wilk, 2017].

Dojrzałe nasiona soi zawierają około 40,00 g·100 g⁻¹ s.m. białka (Tab. 3) a niedojrzałe (soja warzywna) 38,65 g·100 g⁻¹ s.m.. Natomiast wysoką zawartość białka wykazują kielki soi (50,15 g·100 g⁻¹ s.m.) [Ebert i in, 2017]. Według badań przeprowadzonych przez Cho i in. [2013] zawartość białka nie zależy od warunków środowiskowych (temperatura, rok uprawy i nasłonecznienie) oraz odmiany. Najwyższą średnią zawartość białka odnotowali oni w czarnej soi – 43,03 g·100 g⁻¹ s.m., a następnie w brązowej (42,80 g·100 g⁻¹ s.m.) i zielonej (42,27 g·100 g⁻¹ s.m.), podczas gdy najniższą zawartość białka charakteryzowała się żółta soja (40,47 g·100 g⁻¹ s.m.).

Tabela 3. Zawartość białka i tłuszczu w nasionach i kielkach soi

Soja	Białko [g·100 g ⁻¹ s.m.]	Tłuszcz [g·100 g ⁻¹ s.m.]	Kwasy tłuszczowe [g·100 g ⁻¹ s.m.]					Literatura
			C16:0	C18:0	C18:1	C18:2	C18:3	
Dojrzałe nasiona	43,2±2,3	20,4±1,8	10,9±0,6	3,6±0,3	24,7±1,2	53,1±2,3	5,9±0,2	Lee i in., 2015
Dojrzałe nasiona (żółte)	41,06	18,35	11,18	3,08	24,33	53,22	7,23	Cho i in., 2013
Soja warzywna	38,65±0,62	nb	nb	nb	nb	nb	nb	Ebert i in., 2017
Kielki soi	50,15±1,94	nb	nb	nb	nb	nb	nb	
Niedojrzała soja (zielona)	37,1±0,74	0,93±0,02	nb	nb	nb	nb	nb	Redondo – Cuanca i in., 2006
Dojrzałe nasiona	40,4±1,82	18,56±0,35	nb	nb	nb	nb	nb	

nb – nie badano

Tłuszcz jest drugim ważnym składnikiem nasion soi, a jego zawartość waha się od 18 do 20% [Chen i in., 2012]. Olej sojowy zawiera 48-58 % kwasu linolowego (typ omega-6), 4-10 % kwasu α -linolenowego (typ omega-3) oraz 19-30% ważnego fizjologicznie kwasu oleinowego [Kania i in., 2002]. Nienasycone kwasy tłuszczowe (C18:3, C18:1 i C18:2) stanowią około 75% całkowitej puli kwasów tłuszczowych [Cho i in., 2013]. Ze względu na korzystny stosunek nienasyconych kwasów tłuszczowych do nasyconych kwasów tłuszczowych olej sojowy ma dużą wartość dietetyczną. Może on wspomagać obniżanie stężenia cholesterolu LDL przez co przyczyniać się do zapobiegania miażdżycy i związanym z nią chorobom sercowo-naczyniowym [Chen i in., 2012]. Dzięki dużej zawartości kwasu linolowego i kwasu linolenowego (Tab. 3.) olej sojowy nadaje się do spożywania przede wszystkim w stanie surowym. Stosowany jest również do uszlachetniania innych tłuszczów roślinnych oraz wykorzystywany jest w przemyśle farmaceutycznym i chemicznym. Ponadto olej sojowy nie zawiera tłuszczów trans, ma niską zawartość tłuszczów nasyconych oraz charakteryzuje się największą zawartością tokoferoli. Olej sojowy tłoczony na zimno zawiera w sumie 1797,6 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ tokoferoli [Obiedzińska i Waszkiewicz-Robak, 2012]. Główną formą tokochromanolową jest γ -tokoferol (60-70%), natomiast zawartość α -tokoferolu, wykazującego największą aktywność wit. E jest mniejsza niż 10% [Dwiyanthi i in., 2011].

Podsumowanie

Soja należy do jednej z najstarszych i najwartościowszych roślin uprawnych na świecie. Jest powszechnie wykorzystywana w różnych dziedzinach przemysłu spożywczego. W krajach Zachodu nasiona soi zyskują popularność z uwagi na specyficzny smak, dzięki któremu możliwe jest istotne urozmaicenie diety. Soja i jej przetwory mają szczególne znaczenie dla wegetarian i wegan, którzy spożywają je jako substytut mięsa. W Polsce soja stosowana jest głównie jako dodatek do pasz dla zwierząt. Jednak ze względu na popularyzację diety wegetariańskiej i wegańskiej zyskuje coraz więcej zwolenników. Liczne badania w Polsce i na świecie coraz częściej donoszą o pozytywnym wpływie tej rośliny na liczne schorzenia, tym bardziej, że obecnie panuje tendencja do stosowania preparatów leczniczych pochodzenia naturalnego.

Literatura

1. Berhow M.A., Kong S.B., Vermillion K.E., Duval S.M. (2006). Complete quantification of group A and group B soyasaponins in soybeans. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 54(6), 2035-2044.
2. Chen K.L., Erh M.H., Su N.W., Liu W.H., Chou C.C., Cheng K.C. (2012). Soyfoods and soybean products: from traditional use to modern applications. *Applied Microbiology and Biotechnology* 96, 9-22.
3. Chitisankul W.T., Takada Y., Takahashi Y., Ito A., Itabashi M., Varayanond W., Kikuchi A., Ishimoto M., Tsukamoto Ch. (2018). Saponin composition complexities in hypocotyls and cotyledons of nine soybean varieties. *LWT - Food Science and Technology* 89, 93-103.

4. Cho K.M., Ha T.J., Lee Y.B., Seo W.D., Kim J.Y., Ryu H.W., Jeong S.H., Kang Y.M., Lee J.H. (2013). Soluble phenolics and antioxidant properties of soybean (*Glycine max* L.) cultivars with varying seed coat colours. *Journal of Functional Foods* 5, 1065-1076.
5. Dueñas M., Hernández T., Robledo S., Lamparrski G., Estrella I., Muñoz R. (2012). Bioactive phenolic compounds of soybean (*Glycine max* cv. Merit): Modifications by different microbiological fermentations. *Polish Journal of Food and Nutrition Science* 62, 241-250.
6. Dwiyanti M.S., Yamada T., Sato M., Abe J., Kitamura K. (2011). Genetic variation of γ -tocopherol methyltransferase gene contributes to elevated α -tocopherol content in soybean seeds. *BMC Plant Biology* 11, 152-153.
7. Ebert A.W., Chang C.H., Yan M.R., Yang R.Y. (2017). Nutritional composition of mungbean and soybean sprouts compared to their adult growth stage. *Food Chemistry* 237, 15-22.
8. Guimarães R.M., Silva T.E., Lemes A.C., Boldrin M.C.F., Silva Pereira M.A., Silva F.G., Egea M.B. (2018). Okara: A soybean by-product as an alternative to enrich vegetable paste, *LWT - Food Science and Technology* 92, 593-599.
9. Ho H.M., Chen R.Y., Leung, L.K., Chan, F.L., Huang, Y., Chen, Z.-Y. (2002). Difference in flavonoid and isoflavone profile between soybean and soy leaf. *Biomedicine and Pharmacotherapy* 56, 289-295.
10. Kang J., Badger T.M., Ronis M.J.J., Wu X. (2010). Non-isoflavone phytochemicals in soy and their health effects. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 58(14): 8119-33.
11. Kania M., Żbikowski P., Gogolewski M. (2002). Transizomeryzacja podczas rafinacji oleju sojowego. *Acta Scientiarum Polonorum. Technologia Alimentaria* 1(2), 47-53.
12. Kim J.A., Hong S.B., Jung W.S., Yu C.Y., Ma K.H., Gwag J.G., Chung I.M. (2007). Comparison of isoflavones composition in seed, embryo, cotyledon and seed coat of cooked-with-rice and vegetable soybean (*Glycine max* L.) varieties. *Food Chemistry* 102, 738-744.
13. Kim Y.H., Hwang Y.H., Lee H.S. (2003). Analysis of isoflavones for 66 varieties of sprout beans and bean sprouts. *Korean Journal of Food Science and Technology* 35, 568-575.
14. Kumar V., Rani A., Dixit A.K., Pratap D., Bhatnagar D. (2010). A comparative assessment of total phenolic content, ferric reducing-anti-oxidative power, free radical-scavenging activity, vitamin C and isoflavones content in soybean with varying seed coat colour. *Food Research International* 43(1), 323-328.
15. Lee J.H. i Cho K.M. (2012). Changes occurring in compositional components of black soybeans maintained at room temperature for different storage periods. *Food Chemistry* 131, 161-169.
16. Lee J.H., Hwang S., Lee Y., Kim K., Cho K.M., Lee Y.B. (2015). Changes occurring in compositions and antioxidant properties of healthy soybean seeds [*Glycine max* (L.) Merr.] and soybean seeds diseased by *Phomopsis longicolla* and *Cercospora kikuchii* fungal pathogens. *Food Chemistry* 185, 205-211.
17. Lee J.H., Kang N.S., Shin S.O., Shin S.H., Lim S.G., Suh D.Y., Baek I.Y., Park K.Y., Ha T.J. (2009). Characterisation of anthocyanins in the black soybean (*Glycine max* L.) by HPLC DAD-ESI/MS analysis. *Food Chemistry* 112, 226-231.
18. Lee J., Hwang Y-S., Kim S.T., Yoon W-B., Han W.Y., Kang I-K., Chung M-G. (2017). Seed coat color and seed weight contribute differential responses of targeted metabolites in soybean seeds. *Food Chemistry* 214, 248-258.
19. Lee S.-J., Ahn J.-K., Chung, I.-M. (2007). Comparison of isoflavone concentrations in soybean (*Glycine max* (L.) Merrill) sprouts grown under two different light conditions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 55, 9415-9421.
20. Lee S.J., Seguin P., Kim J.J., Moon H.J., Ro H.M., Kim E.H., Seo S.H., Kang E.Y., Ahn J.K., & Chung I.M. (2010). Isoflavones in Korean soybeans differing in seed coat and cotyledon color. *Journal of Food Composition and Analysis*, 23, 160-165.
21. Liu K. (1997). Soybeans: chemistry, technology, and utilization . Chapman & Hall, New York.
22. Liu K. (2004). Soybeans as Functional Foods and Ingredients. AOCS Press, Champaign, IL 12-45.
23. Martino H., Cardoso L., Ribeiro S., Dantas M., Piovesan N., De Mejía E. (2011). Nutritional and Bioactive Compounds of Soybean: Benefits on Human Health, Soybean and Health, Prof. Hany El-Shemy (Ed.), ISBN: 978-953-307-535-8.
24. Nowak A. (2011). Nasiona soi zwyczajnej – cenny surowiec dietetyczny i leczniczy, Kosmos: problemy nauk biologicznych, Polskie Towarzystwo Przyrodników im. Kopernika, 1-2, 179-187.
25. Obiedzińska A, Waszkiewicz-Robak B. (2012). Oleje tłoczone na zimno jako żywność funkcjonalna. *Żywność Nauka Technologia Jakość* 1(80), 27-44.

26. Redondo-Cuenca A., Villanueva-Suárez M.J., Rodríguez-Sevilla M.D., Mateos-Aparicio I. (2006). Chemical composition and dietary fibre of yellow and green commercial soybeans (*Glycine max*). *Food Chemistry* 101:1216-1222.
27. Romani A., Vignolini P., Galardi C., Aroldi C. Vazzana C., Heimler D. (2003). Polyphenolic content in different plant parts of soy cultivars grown under natural conditions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 51, 5301-5306.
28. Seguin P., Bodo R., Al-Tawaha A.M. (2007). Soybean isoflavones: factors affecting concentrations in seeds. In: Acharya S.N., Thomas J.E. (Eds.), *Advances in Medicinal Plant Research*. Research Signpost, Trivandrum, Kerala, India, 65-80.
29. Shiraiwa M., Harada K., Okubo K. (1991). Composition and structure of "group B saponin" in soy seed. *Agricultural and Biological Chemistry* 55, 911-917.
30. Szymczak G., Wójciak-Kosior M., Sowa I., Zapała K., Strzemiński M., Kocjan R. (2017). Evaluation of isoflavone content and antioxidant activity of selected soy taxa. *Journal of Food Composition and Analysis* 57, 40-48.
31. Wilk M. (2017). Soja źródłem cennych składników żywieniowych. *Żywność Nauka Technologia Jakość*, 24, 2 (111), 16-25.
32. Wiśniewski R., Kapusta I., Lachowicz S. (2016). Wpływ operacji technologicznych na zawartość izoflawonów w soi zwyczajnej (*Glycine max* (L.) Merr.). *Towaroznawcze Problemy Jakości*, 1, 68-75.
33. Yuk H.J., Lee J.H., Curtis-Long M.J., Lee J.W., Kim Y.S., Ryu H.W., Park Ch.G., Jeong T.-S., Park K.H. (2011). The most abundant polyphenol of soy leaves, coumestrol, displays potent α -glucosidase inhibitory activity. *Food Chemistry* 126, 1057-1063.

RENATA BIEŻANOWSKA-KOPEĆ¹, ANNA MAGDALENA AMBROSZCZYK²,
TERESA LESZCZYŃSKA¹

¹Katedra Żywienia Człowieka, Wydział Technologii Żywności,
Uniwersytet Rolniczy im. H. Kołłątaja w Krakowie

²Katedra Roślin Warzywnych i Zielarskich, Wydział Biotechnologii i Ogrodnictwa,
Uniwersytet Rolniczy im. H. Kołłątaja w Krakowie

**PORÓWNANIE WARTOŚCI ODŻYWCZEJ ORAZ ZAWARTOŚCI SKŁADNIKÓW
BIOAKTYWNYCH RÓŻNYCH ODMIAN KETMII JADALNEJ
(ABELMOSCHUS ESCULENTUS)**

Streszczenie

Celem pracy było zbadanie wartości odżywczej oraz zawartości składników bioaktywnych w owocach ketmii jadalnej, w zależności od odmiany. Materiał badawczy stanowiły cztery odmiany okry w uprawie szklarniowej: Blondy, Clemson Spineless, Pure Luck F1, Red Burgundy.

Na podstawie otrzymanych wyników można stwierdzić, że zawartość składników odżywczych uzależniona była od odmiany. Owoce ketmii jadalnej odmiany Clemson Spineless charakteryzowały się najwyższą wartością energetyczną, zawartością białek, tłuszczów, węglowodanów, popiołu oraz P, Mg, Ca, Fe, Zn i Mn. Dodatkowo wyróżniały się wysokim potencjałem antyoksydacyjnym. Najwyższą aktywnością antyoksydacyjną oraz zawartością składników bioaktywnych (błonnik, witaminy C, polifenoli ogółem), przy jednocześnie najwyższej zawartości karotenoidów, chlorofilu "a" oraz „b” odznaczały się strąki okry odmiany Pure Luck F1. Ponadto owoce te wykazywały wysoką wartość energetyczną, zawartość węglowodanów oraz Cu, Zn i Mn.

Słowa kluczowe: owoce ketmii jadalnej, składniki odżywcze, składniki bioaktywne

Wprowadzenie

Ketmia jadalna (syn. *Abelmoschus esculentus*), popularnie nazywana okrą, jest rośliną jednoroczną. Uprawiana jest w krajach o klimacie ciepłym i tropikalnym na całym świecie, jako ważna roślina warzywna, a ceniona jest szczególnie ze względu na swoje owoce [Arapitsas, 2008]. Owoce mogą być spożywane w stanie surowym, ale najczęściej są poddawane obróbce termicznej. Można je suszyć, mrozić, gotować, smażyć, dusić, marynować oraz konserwować [Wierzbička, 2002]. Są one cennym dodatkiem do sosów i zup, gdyż dzięki wysokiej zawartości śluzu, stosuje się ją do zagęszczania potraw, nadając im pożądaną konsystencję. W Indiach podłużnie krojone owoce okry, piecze się

i podaje w formie grzanek. Nasiona po uprażeniu są dodawane do ciast, jak również mogą stanowić substytut kawy bezkofeinowej [Węglarscy, 2006].

Okra jest warzywem cenionym nie tylko za względu na smak, ale również za swoje właściwości zdrowotne. Pod względem chemicznym, roślina ta posiada znaczne ilości błonnika, witamin z grupy B, witaminy C, soli mineralnych, takich jak: wapń, fosfor, magnez, żelazo, cynk, żelazo oraz selen. Dodatkowo zawiera β -karoten, luteinę oraz zeaksantynę. Ponadto przypisuje się jej silną aktywność antyoksydacyjną [Biggs in., 2007]. Cukrami, które dominują w łańcuchach polisacharydowych ketmii jadalnej są: galaktoza, kwas galakturonowy oraz ramnoza [Baur i in., 2012]. Błonnik pokarmowy zawarty w okrze wspomaga odchudzanie, obniża poziom cholesterolu [Zaharuddin i in., 2014]. Okra może służyć jako lek dietetyczny do leczenia hiperglikemii i hipertriglicerydemii [Fan i in., 2014]. Ekstrakty z roślin okry mogą pomagać w ochronie wątroby przed chemicznymi uszkodzeniami [Alqasoumi, 2012].

Wartość odżywcza, jak również zawartość związków o właściwościach prozdrowotnych w owocach okry jest cechą odmianową, ale również ulega zmianom pod wpływem warunków uprawowych, wielkości strąków oraz stopnia ich dojrzałości [Petropoulos i in., 2018].

Celem pracy było zbadanie składu podstawowego oraz potencjału antyoksydacyjnego ketmii jadalnej. Badania obejmowały cztery odmiany okry: Blondy, Clemson Spineless, Red Burgundy oraz Pure Luck F1.

Materiał i metody badań

Materiał badawczy stanowiły cztery odmiany owoców ketmii jadalnej: Blondy, Clemson Spineless, Pure Luck F1 i Red Burgundy. Ketmia jadalna uprawiana była w szklarni doświadczalnej Katedry Roślin Warzywnych i Zielarskich Uniwersytetu Rolniczego w Krakowie w 2014 r. Nasiona okry, sprowadzone zostały z firm nasiennych z Wielkiej Brytanii i wysiewane były do kostek z wełny mineralnej. Rośliny w fazie liści zostały przeniesione na maty z włókna kokosowego, które umieszczone były na rynnach uprawowych w szklarni. Na jednej macie znajdowały się 2 rośliny w rozstawie 80 x 50 cm. Na jedną odmianę przypadały dwie rynny uprawowe. Doświadczenie prowadzone było w 4 powtórzeniach. System kropelkowego nawadniania został połączony z nawożeniem, które było odpowiednio dopasowane do fazy rozwoju rośliny. W trakcie trwania doświadczenia prowadzone były zabiegi pielęgnacyjne. Dodatkowo stosowano chemiczne środki ochrony roślin, według zaleceń, w postaci oprysków dolistnych (Teldor 500 SC, Amistar Opti 480 SC, Topsin M 500 SC). Zbiór owoców, w fazie dojrzałości zbiorczej, przeprowadzano systematycznie w miarę ich dojrzewania. Do analiz wybierano losowo owoce dojrzałe, zdrowe, w pełni wykształcone, bez jakichkolwiek uszkodzeń.

W świeżych owocach okry oznaczano zawartość podstawowych składników pokarmowych: białek, tłuszczów, węglowodanów, popiołu i suchej masy metodą AOAC [1995] a cukrów ogółem metodą antronową [Yemm i Wills, 1954]. Wartość energetyczną oraz zawartość węglowodanów obliczano ze wzoru. Zawartość makro- i mikroelementów oznaczano poprzez spalanie próbek na mokro, a następnie dokonując pomiaru w spektrofotometrze Varian Spectr AA-20. Zawartość błonnika pokarmowego analizowano przy użyciu kitu K-TDFR, zawartość witaminy C, jako sumę kwasu L-askorbinowego i dehydroaskorbinowego, oznaczano metodą Tillmansa w modyfikacji Pijanowskiego [Rutkowska, 1981]. Zawartość polifenoli ogółem oznaczano przy użyciu odczynnika Folina-Ciocalteu'a [Swain i Hillis, 1959]. Aktywność antyoksydacyjną oznaczano z zastosowaniem trwałego wolnego rodnika ABTS' [Re i in., 1999]. Oznaczanie barwników wykonano według Lichtenthallera i Wellburn [1983].

Analizę statystyczną wyników oraz istotność różnic pomiędzy średnimi, określano na podstawie analizy wariancji Anova, testem Duncana, przy użyciu programu Statistica 10. Zastosowano poziom istotności $P \leq 0,05$.

Wyniki i dyskusja

Szczegółowe wyniki oznaczeń wartości kalorycznej i składu chemicznego owoców ketmii jadalnej zamieszczono w Tab. 1.

Tabela 1. Wartość energetyczna (kcal) oraz skład chemiczny owoców ketmii jadalnej [g·100 g⁻¹ ś.m.]

Obiekt	Wartość energetyczna	Białka	Tłuszcze	Węglowodany	Cukry	Popiół	Woda
Blondy	28 b*	1,60 c	0,16 b	4,96 b	0,77 c	0,74 b	92,54 a
Clemson Spineless	33 a	1,84 a	0,23 a	5,84 a	0,97 b	0,77 a	91,31 b
Pure Lack F₁	32 a	1,71 b	0,19 ab	5,94 a	0,92 b	0,72 b	91,44 b
Red Burgundy	29 b	1,65 bc	0,17 b	5,28 b	1,10 a	0,74 b	92,15 a

*wartości średnie w kolumnach, oznaczone różnymi literami, różnią się istotnie przy $P \leq 0,05$

Wartość energetyczna 100 g świeżej okry mieściła się w granicach od 28 do 33 kcal. Najwyższą kalorycznością charakteryzowały się odmiany Clesmon Sprineles i Pure Luck F1, w których stwierdzono równocześnie większe ilości białek, tłuszczów oraz węglowodanów. Zaprezentowane wyniki są wyższe w porównaniu z danymi przedstawionymi przez Gemedede i in. [2014], którzy określili kaloryczność ketmii na 20 kcal·100 g⁻¹ ś.m. Petropoulos i in. [2018] analizując zbiór małych i dużych strąków okry z uprawy gruntowej, pochodzących łącznie z ośmiu odmian nasion greckich i z Ameryki

Północnej, w tym Clemson Spineless wykazali, że wartość energetyczna ketmii mieściła się w zakresie: 33,77-76,7 kcal·100 g⁻¹ ś.m. i była wyższa dla owoców małych.

Najwyższą zawartością białka charakteryzowały się owoce okry odmiany Clemson Spineless. W pozostałych odmianach zawartość tego składnika mieściła się w zakresie od 1,60 do 1,71 g·100 g⁻¹ ś.m. Uzyskane dane były porównywalne dla małych strąków odmiany Clemson Spineless (1,88 g) w badaniach Petropoulos i in. [2018]. Wspomniani autorzy dla pozostałych odmian ketmii uzyskali wyniki zarówno niższe (1,37 g) jak i dochodzące do 3,44 g białka w 100 g ś.m. Wyższe ilości białka zaprezentowali również w swoich badaniach Roy i in. [2014], Gemede i in. [2014] oraz Nwachukwu i in. [2014], zarówno w młodych (2,56%) jak i dojrzałych (2,51%) strąkach świeżej okry. Zawartość białka jest ściśle skorelowana z warunkami pogodowymi, sposobami uprawy roli czy odchwaszczania.

Zawartość tłuszczu w ketmii jadalnej mieściła się w zakresie 0,16-0,23 g·100 g⁻¹ ś.m. i była istotnie (P≤0,05) najwyższa dla odmiany Clemson Spineless. Porównywalny lub niższy poziom zawartości tłuszczu w okrze, przedstawili w swojej pracy Nwachukwu i in. [2014], Gemede i in. [2014] oraz Petropoulos i in. [2018], zarówno dla strąków dużych (0,127-0,206 g·100 g⁻¹ ś.m.), jak i małych (0,139-0,321 g·100 g⁻¹ ś.m.).

Na wartość energetyczną żywności, obok białek i tłuszczów, duży wpływ ma zawartość węglowodanów. Najwyższą zawartością tego składnika charakteryzowały się odmiany: Clesmon Sprineles i Pure Luck F1, natomiast najniższą odmiana Blondy. Uzyskane wartości były niższe w odniesieniu do wyników innych autorów. Petropoulos i in. [2018] otrzymali w swoich analizach ilość węglowodanów w zakresie 6,68-15,8 g·100 g⁻¹ ś.m. Podobnie zawartość węglowodanów w doświadczeniu Nwachukwu i in. [2014] wynosiła 7,05 g·100 g⁻¹ ś.m. strąków okry, a Gemede i in. [2014] 8,20 g·100 g⁻¹ ś.m.

Na smak warzyw w znacznej mierze wpływa zawartość cukrów. Najwyższą zawartością cukrów rozpuszczalnych odznaczała się odmiana Red Burgundy, natomiast odmianą o najniższym poziomie cukrów była Blondy. Według Roy i in. [2014] zawartość cukrów ogółem w 100 g świeżej ketmii wynosiła 1,2 g.

Zawartość popiołu w owocach okry mieściła się w zakresie 0,72-0,77 g·100 g⁻¹ ś.m. i była istotnie (P≤0,05) najwyższa dla odmiany Clesmon Spineless. Szerszy zakres tego składnika (0,50-0,971 g) w owocach okry uzyskali Petropoulos i in. [2018] i był on zależny od odmiany. Wyższe wyniki, w porównaniu z prezentowanymi w niniejszej pracy, opisali Nwachukwu i in. [2014]. Wartość ta kształtowała się na poziomie 1,38 g.

Analizowane odmiany strąków okry charakteryzowały się wysoką zawartością wody, której zawartość oscylowała w granicach 91,31 g·100 g⁻¹ ś.m. (Clemson Spineless) - 92,54 g·100 g⁻¹ ś.m. (Blondy). Porównywalne oraz niższe wartości otrzymali Petropoulos

i in. [2018] – 80,1-91,3 g. Niższe wyniki uzyskali inni autorzy [Gemedede i in., 2014; Nwachukwu i in., 2014]. Durau [2013] przedstawił zawartość suchej masy w świeżych owocach ketmii, która mieściła się w zakresie 9,8-14,3%. Jak wykazali Petropoulos i in. [2018] głównym czynnikiem mającym znaczenie dla tego parametru jest: odmiana oraz wielkość strąków.

Tabela 2 zawiera zestawienie wyników zawartości makroelementów w owocach okry. Ketmia jadalna jest bardzo dobrym źródłem składników mineralnych, szczególnie fosforu i magnezu.

Tabela 2. Zawartość makroskładników w owocach ketmii jadalnej [mg·100 g⁻¹ ś.m.]

Obiekt	P	Mg	Ca
Blondy	56,86 d*	56,85 b	184 b
Clemson Spineless	69,86 a	70,81 a	213 a
Pure Lack F₁	62,92 b	49,83 c	184 b
Red Burgundy	59,78 c	56,73 b	172 c

*wartości średnie w kolumnach, oznaczone różnymi literami, różnią się istotnie przy P≤0,05

Najwyższą zawartością wszystkich makroelementów charakteryzowała się odmiana Clemson Spineless. Najniższą zawartość fosforu (P≤0,05) zaobserwowano w odmianie: Blondy, magnezu w Pure Lack F₁, natomiast wapnia w Red Burgundy. Według badań Petropoulos i in. [2018], zawartość magnezu w strąkach okry mieściła się w zakresie 36-109 mg, a wapnia 142-359 mg, co było uzależnione od odmiany oraz wielkości i dojrzałości owoców.

Tabela 3. Zawartość mikroskładników w owocach ketmii jadalnej [mg·100 g⁻¹ ś.m.]

Obiekt	Fe	Cu	Zn	Mn
Blondy	0,659 c*	0,025 c	0,360 b	0,052 c
Clemson Spineless	0,750 a	0,026 c	0,410 a	0,060 a
Pure Lack F₁	0,673 b	0,035 a	0,402 a	0,059 a
Red Burgundy	0,650 c	0,030 b	0,361 b	0,056 b

*wartości średnie w kolumnach, oznaczone różnymi literami, różnią się istotnie przy P≤0,05

Analizując zawartość wybranych mikroelementów, tj. żelaza, miedzi, cynku oraz manganu (Tab. 3), stwierdzono istotne różnice statystyczne pomiędzy badanymi odmianami. Zaobserwowano, że owoce okry odmiany Clemson Spineless charakteryzowały się najwyższą zawartością żelaza, cynku i manganu. Również wysoki poziom omawianych składników występował w odmianie Pure Luck F₁, której strąki

dodatkowo zawierały najwyższą ze wszystkich analizowanych odmian zawartość miedzi. Najmniej mikroelementów stwierdzono w owocach odmiany Blondy.

Do składników bioaktywnych, zawartych w żywności, zaliczamy m.in. błonnik pokarmowy, witaminy: C, E, A, karotenoidy, polifenole czy kwasy organiczne [Szajdek i Borowska, 2004].

Tabela 4. Zawartość składników bioaktywnych w świeżej masie owoców ketmii jadalnej

Obiekt	Błonnik [g·100 g ⁻¹ ś.m.]	Witamina C [mg·100 g ⁻¹ ś.m.]	Polifenole ogółem [mg kw. chlorogenowego ·100 g ⁻¹ ś.m.]	Aktywność antyoksydacyjna [μmol Troloxu·100 g ⁻¹ ś.m.]
Blondy	1,80 b*	38,33 c	121,07 b	1391 a
Clemson Spineless	1,71 b	35,55 d	118,48 b	1368 a
Pure Lack F₁	2,14 a	44,30 a	128,02 a	1295 a
Red Burgundy	2,35 a	40,14 b	123,23 ab	1346 a

*wartości średnie w kolumnach, oznaczone różnymi literami, różnią się istotnie przy P≤0,05

Ketmia znana jest głównie z wysokiej zawartości śluzu [Węglarscy, 2006]. Analizowane owoce okry odmiany Red Burgundy i Pure Luck F₁ charakteryzowały się najwyższą ilością błonnika pokarmowego. Inni autorzy przedstawiali w owocach okry niższą [Nwachukwu i in., 2014] lub porównywalną zawartość tego składnika [Gemedé i in., 2014]. Według analizy Roy i in. [2014], całkowita zawartość błonnika we wszystkich jadalnych częściach świeżej okry wynosiła 3,2 g·100 g⁻¹ ś.m.

Witaminy antyoksydacyjne oraz polifenole zawarte w żywności, wpływają na jej potencjał przeciwutleniający, który wspiera ochronę organizmu przed stresem oksydacyjnym. Ketmii jadalnej przypisuje się silną aktywność antyoksydacyjną [Biggs i in., 2007]. Witamina C należy do przeciwutleniaczy o dużej efektywności działania. W walce z rodnikami współdziała z witaminą E oraz karotenoidami [Stolarzewicz i in., 2013]. W przedstawionych badaniach (Tab. 4), najwyższą ilością tej witaminy odznaczała się okra odmiany Pure Lack F₁, natomiast najniższy wynik odnotowano w strąkach Clemson Spineless. Według Roy i in. [2014], średnia zawartość witaminy C w 100 g świeżych owoców okry wynosiła 21,1 mg, natomiast Durau [2013] stwierdził, że poziom tej witaminy w ketmii może dochodzić nawet do 126 mg·100 g⁻¹ ś.m. Jak podali Qian i in. [2016] na przykładzie kiełków kapusty, na gromadzenie witaminy C istotny wpływ ma źródło światła. W białym świetle rośliny gromadziły najwyższą zawartość tej witaminy.

Potencjał przeciwutleniający warzyw zależy nie tylko od witaminy C, ale również od zawartości w nich polifenoli. Substancje te obniżają lub zapobiegają szkodliwemu

wpływowi wolnych rodników na żywe tkanki, hamując m.in. proces starzenia oraz rozwój niektórych chorób [Stolarzewicz i in., 2013]. W niniejszym doświadczeniu wyniki zawartości polifenoli ogółem mieściły się w granicach 118,48-128,02 mg kw. chlorogenowego/100 g ś.m. (Tab. 4). Najwyższy ich poziom odnotowano dla Pure Lack F₁ oraz Red Burgundy. Uzyskane wartości były wyższe w zestawieniu z danymi literaturowymi. Niższe ilości polifenoli (87 mg·100 g⁻¹ ś.m.) uzyskali Aberoumand i Deokule [2008]. Surowce roślinne charakteryzują się bardzo zróżnicowaną zawartością związków polifenolowych, nawet w obrębie tego samego gatunku. Składa się na to wiele czynników, takich jak: odmiana, stopień dojrzałości, warunki agrotechniczne i klimatyczne w okresie wzrostu oraz warunki i czas przechowywania po zbiorze [Walkowiak-Tomczak, 2009].

Aktywność antyoksydacyjna owoców okry, bez względu na odmianę, była porównywalna (P>0,05) i mieściła się w zakresie: 1295-1391 μmol TEAC·100 g⁻¹ ś.m. W dostępnej literaturze nie odnaleziono danych, dotyczących aktywności antyoksydacyjnej ketmii jadalnej, oznaczonej metodą ABTS. Khomsug i in. [2010] przedstawili potencjał antyoksydacyjny nasion okry, wyrażony jako % DPPH, który wynosił od 46,38 do 64,00.

Dużą grupę antyoksydantów stanowią karotenoidy, mogące przeciwdziałać lub hamować rozwój niektórych nowotworów, miażdżycy czy chorób degeneracyjnych mięśni [Stolarzewicz i in., 2013]. Analizując barwniki w owocach ketmii jadalnej można jednoznacznie stwierdzić, że najwyższą zawartością wszystkich badanych barwników (karotenoidów, chlorofilu „a” oraz „b”) charakteryzowały się strąki odmiany Pure Luck F₁ (Tab. 5).

Tabela 5. Zawartość barwników w owocach ketmii jadalnej [mg·100 g⁻¹ ś.m.]

Obiekt	Karotenoidy	Chlorofil „a”	Chlorofil „b”
Blondy	0,005 c	0,016 c	0,018 c
Clemson Spineless	0,029 b	0,120 b	0,052 b
Pure Lack F₁	0,038 a	0,157 a	0,069 a
Red Burgundy	0,024 b	0,096 b	0,047 b

*wartości średnie oznaczone różnymi literami różnią się istotnie przy P≤0,05

Owoce odmiany Red Burgundy i Clemson Spineless zawierały średnią ilość barwników, natomiast istotnie najmniej chlorofili i karotenoidów wytworzyły owoce Blondy. Według Roy i in. [2014] średnia zawartość β-karotenu w owocach okry wynosiła 225 mg·100 g⁻¹ ś.m. Nwachukwu i in. [2014] porównując zawartość wszystkich chlorofilów w młodych i dojrzałych owocach do ich zawartości w młodych i dojrzałych

liściach okry wykazał, że najniższą całkowitą zawartość chlorofili miały owoce dojrzałe (0,11 mg·100 g⁻¹ ś.m.). Jak podają Hallmann i Rembiałkowska [2007] synteza karotenoidów związana jest z obecnością azotu w glebie.

Podsumowanie

Ketmia jadalna odmiany Blondy charakteryzowała się najwyższą aktywnością antyoksydacyjną oraz zawartością wody. Pozostałe analizowane parametry były najniższe, w odniesieniu do innych strąków okry.

Owoce okry odmiany Clemson Spineless charakteryzowały się najwyższą wartością energetyczną, zawartością białek, tłuszczów, węglowodanów, popiołu oraz P, Mg, Ca, Fe, Zn i Mn. Dodatkowo wyróżniały się wysokim potencjałem antyoksydacyjnym, przy jednocześnie najniższym poziomie błonnika, witaminy C oraz polifenoli ogółem.

W strąkach okry odmiany Pure Luck F1 odnotowano najwyższą aktywność antyoksydacyjną oraz zawartość składników bioaktywnych (błonnika, witaminy C, polifenoli ogółem), przy jednocześnie najwyższej zawartości karotenoidów, chlorofilu "a" oraz „b” Ponadto owoce te wykazywały wysoką wartość energetyczną, zawartość węglowodanów oraz Cu, Zn i Mn.

W odmianie Red Burgundy wykazano najwyższą zawartość cukrów ogółem, błonnika, polifenoli ogółem oraz wysoką aktywność antyoksydacyjną.

Reasumując przedstawione w niniejszej pracy wyniki, można stwierdzić, iż odmiana ma wpływ na zawartość poszczególnych składników odżywczych w ketmii jadalnej oraz zawartość składników bioaktywnych.

Literatura

1. Aberoumand A., Deokule S.S. (2008). Comparison of phenolic compounds of some edible plant of Iran and India. *Pakistan Journal of Nutrition*, 7 (4), 582-585.
2. Alqasoumi S.I. (2012). 'Okra' *Hibiscus esculentus* L.: A study of its hepatoprotective activity. *Saudi Pharmaceutical Journal*, 20, 135-141.
3. AOAC (1995). *Official Methods of Analysis of AOAC International*. 2nd edition. Maryland USA: AOAC International; 1995. Vol. 16.
4. Arapitsas P. (2008). Identification and quantification of polyphenolic compounds from okra seeds and skins. *Food Chemistry*, 110, 1041-1045.
5. Baur T., Dąbrowska M., Majewski S., Arct J., Pytkowska K. (2012). Wstępna ocena możliwości kosmetycznego wykorzystania owoców ketmii jadalnej. Wyższa Szkoła Zawodowa Kosmetyki i Pielęgnacji Zdrowia, Warszawa.
6. Biggs M., McVicar J., Flowerdew B. (2007). *Wielka księga warzyw, ziół i owoców*. Dom Wydawniczy Bellona, Warszawa.
7. Durau B. (2013). *Uprawa mało znanych roślin warzywnych*. Wyd. Uczelniane Uniwersytetu Technologiczno-Przyrodniczego w Bydgoszczy.
8. Fan S., Zhang Y., Sun Q., Yu L., Li M., Zheng B., Wu X., Yang B., Li Y., Huang C. (2014). Extract of okra lowers blood glucose and serum lipids in high-fat diet-induced obese C57BL/6 mice. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 25, 702-709.

9. Gemede H.F., Ratta N., Haki G.D., Woldegiorgis A.Z., Beyene F. (2014). Nutritional quality and health benefits of okra (*Abelmoschus esculentus*). *Food Science and Quality Management*, 33, 87-96.
10. Hallmann E., Rembiałkowska E. (2008). Estimation of nutritive and sensory value of tomatoes and tomato juices from organic and conventional production. *Journal of Research and Applications in Agricultural Engineering*, 53(3), 88-95.
11. Khomsug P., Thongjaroenbuangam W., Pakdeenarong N., Suttajit M., Chantiratikul P. (2010). Activities and phenolic content of extracts from okra. *Research Journal of Biological Sciences*, 5(4), 310-313.
12. Lichtenthaler H.K., Wellburn A.R. (1983). Determinations of total carotenoids and chlorophylls *a* and *b* of leaf extracts in different solvents. *Biochemical Society Transactions*, 11(5), 591-592.
13. Nwachukwu E.C., Nulit R., Go R. (2014). Nutritional and biochemical properties of Malaysian okra variety. *Advancement in Medicinal Plant Research*, 2(1), 16-19.
14. Petropoulos S., Fernandes A., Barros L., Ferreira I.C.F.R. (2018). Chemical composition, nutritional value and antioxidant properties of Mediterranean okra genotypes in relation to harvest stage. *Food Chemistry*, 242, 466-474.
15. Qian H., Liu T., Deng M., Miao H., Cai C., Shen W., Wang Q. (2016) Effects of light quality on main health-promoting compounds and antioxidant capacity of Chinese kale sprouts. *Food Chemistry*, 196, 1232-1238.
16. Re R., Pellegrini N., Proteggente A., Pannala A., Yang M., Rice- Evans C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*, 26, 1231-1237.
17. Roy A., Shrivastava S.L., Mandal S.M. (2014). Functional properties of Okra *Abelmoschus esculentus* L. (Moench): traditional claims and scientific evidences. *Plant Science Today*, 1 (3), 121-130.
18. Rutkowska U. (1981) Wybrane metody badania składu i wartości odżywczej żywności. PZWL, Warszawa 294-297.
19. Stolarzewicz I.A., Ciekot J., Fabiszewska A.U., Białecka-Florjańczyk E. (2013). Roślinne i mikrobiologiczne źródła przeciwutleniaczy. *Postępy Hig Med Dosw (online)*, 67, 1359-1373.
20. Swain T., Hillis W.E. (1959). The phenolic constituents of *Prunus Domestica* (L.). The quantity of analysis of phenolic constituents. *Journal of The Science of Food and Agriculture*, 10, 63-68.
21. Szajdek A., Borowska J. (2004). Właściwości przeciwutleniające żywności pochodzenia roślinnego. *Żywność Nauka Technologia Jakość*, 4 (41), 5-28.
22. Walkowiak-Tomczak D. (2009). Wpływ stopnia dojrzałości na parametry fizyczno-chemiczne i zawartość związków polifenolowych w wybranych odmianach śliwek (*Prunus domestica*). *Nauka Przyroda Technologia*, 3(4), 1-9.
23. Węglarscy J. i K. (2006). Rośliny dalekiej Azji. Szkice etnobotaniczne. Bogucki Wydawnictwo Naukowe, Poznań.
24. Wierzbicka B. (2002). Mniej znane rośliny warzywne. Wyd. UWM, Olsztyn.
25. Yemm E.W., Wills A.J. (1954) The estimation of carbohydrates in plant extracts by anthrone. *Biochem. Journal*, 57, 508-514.
26. Zaharuddin, N.D., Noordin M.I., Kadivar A. (2014). The use of *Hibiscus esculentus* (Okra) gum in sustaining the release of propranolol hydrochloride in a solid oral dosage form. *BioMed Research International*. ID 735891, 8.

Projekt został sfinansowany ze środków przyznanych na działalność statutową nr DS. 30710/KZCz/2014.

OWOCE I WARZYWA JAKO SKŁADNIK ZDROWEJ DIETY CZŁOWIEKA

Streszczenie

Aktualna literatura światowa wykazuje, że właściwe odżywianie przyczynia się nie tylko do wydłużenia życia człowieka, ale też do poprawy jego jakości, zaś znaczenie żywieniowe owoców i warzyw jest znacznie większe niż dotychczas sądzono. Biorąc pod uwagę występowanie chorób dietozależnych obecnie uważa się, że owoce i warzywa powinny być podstawą wyżywienia ludności świata. W związku z tym dokonano korekt w zaleceniach żywieniowych umieszczając warzywa i owoce u podstawy piramid żywieniowych. Analizując bazę danych składu chemicznego poszczególnych gatunków owoców i warzyw pod kątem zasobności w określone składniki odżywcze, należy oprócz zawartości bezwzględnej poszczególnych składników rozważać dostępność poszczególnych gatunków oraz porcje możliwe do spożycia. Owoce i warzywa w stanie przetworzonym nadal mogą pozostawać wartościowym źródłem składników o pozytywnym wpływie na zdrowie człowieka, o ile proces technologiczny zostanie prawidłowo przeprowadzony.

Wprowadzenie

Owoce i warzywa są częścią diety ludzi od niepamiętnych czasów, na co wskazuje przystosowanie naszego organizmu do trawienia różnego rodzaju składników pochodzenia roślinnego. Produkty te przez wieki pozostawały w świadomości człowieka jako źródło pożywienia i energii niezbędnej dla utrzymania funkcji życiowych. Z czasem postępujący rozwój cywilizacji, udomowienie zwierząt i opanowanie ich hodowli sprawiło, że produkty wysokoenergetyczne jak mięso i tłuszcze były chętnie włączane do codziennej diety, co więcej stanowiły symbol wysokiego statusu społecznego i dostatku. Podobnie rozwój przetwórstwa i umiejętność oczyszczania ziaren zbóż oraz ekstrakcji cukrów z tkanki roślinnej ułatwiły przeciętnemu człowiekowi dostęp do tych produktów, co wkrótce okazało się niekorzystne dla zdrowia społeczeństwa. Plagą ostatnich dekad stały się choroby dietozależne, w tym choroby układu sercowo-naczyniowego, otyłość i cukrzyca. W przypadku nadciśnienia tętniczego mówi się wręcz o epidemii tej dolegliwości. Znamiennym jest też, że ludzie są narażeni na czynniki ryzyka związane z chorobami dietozależnymi niezależnie od wieku. Intensywne badania na rzecz zidentyfikowania źródła problemu jednoznacznie wskazują, że przyczyny chorób cywilizacyjnych mają

silny związek z błędami dietetycznymi, a w szczególności z nadmiernym spożyciem kalorii, często połączonym z niedoborem niektórych składników odżywczych, wynikających ze spożywania produktów wysokoprzetworzonych oraz niewystarczającą aktywnością fizyczną [Rezolucja Parlamentu UE, 2008; IŻŻ, 2017].

Rola owoców i warzyw w profilaktyce chorób dietozależnych

Aktualna literatura światowa dostarcza bardzo wiele dowodów potwierdzających korzystny wpływ regularnego spożycia owoców i warzyw na zdrowie człowieka [Slavin i Lloyd, 2012], co znajduje już odzwierciedlenie w oficjalnych wytycznych dietetycznych na całym świecie [USDA, 2015; IŻŻ, 2017]. Aune i in. [2017] wskazali, że zgodnie z dowodami przedstawionymi w raporcie WHO [2003], niskie spożycie owoców i warzyw jest jednym z głównych czynników ryzyka przyczyniających się do wzrostu śmiertelności. Uzyskano przekonujące dowody, że zwiększenie spożycia warzyw i owoców może zapobiec lub przynajmniej ograniczyć ryzyko wystąpienia wielu chorób dietozależnych, w tym nadciśnienia, choroby wieńcowej serca i udaru. Zwiększenie spożycia warzyw i owoców może też zapobiec przyrostowi masy ciała, zmniejszając ryzyko cukrzycy typu 2, a także niektórych chorób oczu, demencji i osteoporozy [Boeing i in., 2012]. Istnieje też prawdopodobieństwo zmniejszenia zachorowalności na raka (np. przewodu pokarmowego) przy zwiększonej konsumpcji warzyw i owoców [Reiss i in., 2012]. Ryzyko przedwczesnego zgonu wskutek chorób dietozależnych (udar, zawał, nowotwory) maleje wraz z liczbą porcji warzyw i owoców zjadanych w ciągu dnia. Przy 3–5 porcjach spadek ryzyka zachorowań szacuje się na 29%, a przy 5–7 porcjach na 42% [Oyebode i in., 2014].

Owoce i warzywa a suplementacja preparatami zawierającymi fitozwiązki

Obserwowane efekty fizjologiczne i biologiczne przy diecie bogatej w owoce i warzywa wynikają ze zwiększonego poboru procyjanidyn, kwasu chlorogenowego [Rawel i Kulling, 2007; Aron i Kennedy, 2008] oraz antocyjanów [Zafira-Stone i in., 2007; Wallace, 2011], a również witamin, błonnika i składników mineralnych. Ogólnie przyjmuje się, że miarą wartości prozdrowotnych owoców i warzyw jest ich potencjał przeciwutleniający, dodatnio skorelowany z zawartością składników polifenolowych, a w szczególności z zawartością antocyjanów, którym przypisuje się między innymi działanie chemoprewencyjne [Tsuda, 2012; Smeriglio i in., 2016]. Antocyjany wprowadzone do układu pokarmowego są wchłaniane do krwiobiegu, skąd następnie przenikają do tkanek i komórek, gdzie dzięki zdolności do wychwytu wolnych rodników przeciwdziałają degradacji DNA i istotnych biologicznie składników [Ambrożewicz i Skrzydlewska, 2009]. Uważa się, że absorpcja antocyjanów w układzie pokarmowym z soków lub

z całych owoców jest zwykle efektywniejsza, niż w przypadku stosowania wyizolowanych związków. Przypuszcza się, że efekt antynowotworowy obserwowany po spożyciu owoców jagodowych, szczególnie zasobnych w polifenole i antocyjny, może być wynikiem współdziałania wielu składników, takich jak witamin, selenu, błonnika czy fitosteroli, naturalnie towarzyszących antocyjanom [Liu, 2003; Smeriglio i in., 2016]. W świetle powyższych doniesień, antocyjany z owoców spożywane wraz z jego naturalną matrycą, wydają się być znacznie korzystniejszą formą jego dostarczenia do organizmu niż formy wyizolowane, które można znaleźć w suplementach diety.

Publikacje WHO w tej kwestii stanowią, że korzyści wynikające ze spożycia owoców i warzyw nie mogą być przypisane pojedynczym składnikom bądź ich mieszaninie i substancjom bioaktywnym [WHO, 2003]. Dlatego też mówi się o tych produktach jako o kategorii, a nie w kontekście składników odżywczych. Jak wskazują wyniki badań przeprowadzonych w ostatnich latach, substytuty diety nie są w stanie zaspokoić zapotrzebowania organizmu w ten sam sposób jak składniki występujące w strukturze owoców i warzyw, a jeśli pobierane są w nadmiarze mogą mieć nawet niekorzystny efekt zdrowotny [IŻŻ, 2017]. Najprawdopodobniej jest to związane z rolą jaką odgrywa mikrostruktura (matryca żywności) w uwalnianiu fitozwiązków, wpływając na ich biodostępność, tj. możliwość absorpcji z jelita i przenikanie do plazmy krwi [Parada i Aguilera, 2007].

Wartości odżywcze owoców i warzyw

Wyniki badań klinicznych i długookresowych badań obserwacyjnych wykazują, że systematyczne spożycie owoców i warzyw może przyczynić się nie tylko do ograniczenia ryzyka zachorowań na choroby układu sercowo-naczyniowego, ale też poprawić jakość życia społeczeństwa. Biorąc pod uwagę występowanie chorób dietozależnych obecnie uważa się, że to owoce i warzywa powinny być podstawą wyżywienia ludności świata. W związku z tym na przestrzeni ostatnich kilkunastu lat dokonano korekt w zaleceniach żywieniowych umieszczając warzywa i owoce u podstawy piramid żywieniowych [IŻŻ, 2017]. Podkreśla się też znaczenie tego typu żywności w ramach całościowej diety, jako produktów o wysokiej gęstości odżywczej, czyli takiej, która jest w stanie dostarczyć jak najwięcej składników odżywczych (witamin, minerałów i błonnika), przy jak najmniejszej dawce kalorii [USDA, 2015; IŻŻ, 2017].

Według wytycznych Instytutu Żywności i Żywienia [IŻŻ, 2017] owoce i warzywa powinny stanowić połowę spożywanej żywności, z czego $\frac{3}{4}$ powinny stanowić warzywa, a $\frac{1}{4}$ owoce. Zalecane proporcje pomiędzy ilością spożywanych warzyw i owoców różnią się w zależności od kraju, i tak na przykład dzieciom w USA zaleca się spożywanie prawie takiej samej ilości owoców co warzyw. O ile proporcje pomiędzy kategoriami

stanowią od lat przedmiot dyskusji ekspertów, to określenie minimalnej rekomendowanej porcji owoców i warzyw jest ogólnie akceptowane. W 2003 roku WHO ustaliło tę ilość na poziomie 400 g dziennie, przy czym wartość ta odnosi się do osób dorosłych o zapotrzebowaniu kalorycznym na poziomie 2 000 kcal. Dla osób o wyższym zapotrzebowaniu energetycznym wymagana ilość powinna być odpowiednio wyższa.

Rozważając owoce i warzywa jako podstawowy składnik diety, niezbędnym staje się wiedza, na temat zasobności poszczególnych gatunków w niezbędne składniki odżywcze, tak aby komponując jadłospisy, możliwe było prawidłowe jej zbilansowanie. Zagadnienie to zostało uregulowane rozporządzeniem Parlamentu Europejskiego i Rady (UE) nr 1169 z dnia 25 X 2011 r. w sprawie przekazywania konsumentom informacji na temat żywności. Dokument ten definiuje i podaje wartości tzw. RWS – dzienne referencyjne wartości spożycia, dla wybranych składników odżywczych oraz witamin i minerałów. Jednocześnie w rozporządzeniu tym określono nomenklaturę pozwalającą na określanie zasobności różnych produktów żywnościowych pod względem zawartości tych składników. Rozporządzenie stanowi, że jeżeli w 100 g produktu znajduje się co najmniej 15% wartości referencyjnych danego składnika, to można w stosunku do niego używać określenie „**źródło**” danego składnika, lub inaczej, że zawiera jego „**znaczącą ilość**”. Dla napojów wartość tę ustalono na 7,5% RWS. Jeśli w 100 g produktu zawiera się więcej niż 30% RWS, to wtedy można stosować do niego określenie, że ma on „**wysoką zawartość**” tego składnika. Nawiązując do powyższych regulacji, w tabelach 1 i 2, w których dla najważniejszych gospodarczo gatunkach owoców i warzyw zestawiono dane dotyczące ich składu chemicznego, oznaczono zawartości składników odżywczych na poziomach powyżej 15% RWS. W tabelach oznaczono kolorami zawartości składników w przedziałach 15-30% RWS, 30-100% RWS oraz również te szczególne gatunki, które w 100 g są w stanie dostarczyć powyżej 100% dziennej rekomendowanej wartości spożycia. Jak można łatwo zauważyć (Tabela 1), warzywa częściej niż owoce są dobrym źródłem wielu składników cennych dla organizmu człowieka. Nie mniej jednak, analizując bazę danych składu chemicznego poszczególnych gatunków pod kątem ich zasobności w określone składniki odżywcze, należy zwrócić uwagę dostępność tych gatunków w danym rejonie. Wskazany jest również rozważenie, jaką ilość danego owocu lub warzywa można spożyć w codziennej diecie.

Rozważając jedynie wartości bezwzględne składników odżywczych w odniesieniu do RWS można by dojść do wniosku, że np. jabłka (Tabela 2) i pomidory (Tabela 1) należą do dość ubogich w składniki odżywcze. Uwzględniając jednak, że są one dostępne cały rok, a ich spożycie znacznie przekracza konsumpcję jakichkolwiek innych produktów ogrodniczych, stają się one istotnym źródłem wielu pożądanых składników niezbędnych dla prawidłowego funkcjonowania organizmu. Zgodnie ze statystyką GUS spożycie jabłek w Polsce na mieszkańca wynosiło rocznie ok. 13 kg/rok, a pomidorów blisko

10 kg [IERiGŻ-PIB, 2017]. Oba te gatunki, tak chętnie spożywane w postaci świeżej lub przetworzonej, przez konsumentów we wszystkich grupach wiekowych, odgrywają olbrzymią rolę w profilaktyce chorób układu sercowo-naczyniowego.

Tabela 1. Kaloryczność i zawartość składników odżywczych w warzywach mających w Polsce szczególne znaczenie gospodarcze lub bardzo bogatych w składniki odżywcze oraz w ziemniakach (nie zaliczanych u nas do warzyw). Dane dla 100 g części jadalnych, wg danych USDA (2015 a).

Gatunek warzyw	Kaloryczność (kcal)	Błonnik (g)	Potas (mg)	Mangan (mg)	Wit. C (mg)	Foliany (µg)	Wit. A (µg)	Wit. K (µg)
Brokuły	34	2,6	316	0,21	89	63	31	102,0
Brukselka	43	3,8	389	0,34	85	61	38	177,0
Jarmuż	49	3,6	491	0,66	120	141	500	705,0
Kalafior	25	2,0	299	0,16	48	57	0	15,5
Kalafior zielony	31	3,2	300	0,25	88	57	8	20,2
Kapusta	25	2,5	170	0,16	37	43	5	76,0
Buraki	43	2,8	325	0,33	5	109	2	0,2
Marchew	41	2,8	320	0,14	6	19	835	13,2
Pietruszka	75	4,9	375	0,56	17	67	0	22,5
Rzodkiewka	16	1,6	233	0,07	15	25	0	1,3
Seler korz.	42	1,8	300	0,16	8	8	0	41,0
Pietruszka naciowa	36	3,3	554	0,16	133	152	421	1640
Pory	61	1,8	180	0,48	12	64	83	47,0
Sałata głow.	13	1,1	238	0,18	4	73	166	102,0
Szpinak	23	2,2	558	0,90	28	194	469	483,0
Cukinia/kabaczek	16	1,1	262	0,18	17	29	10	3,0
Ogórki	12	0,7	136	0,07	3	14	4	7,2
Dynia	26	0,5	340	0,13	9	16	426	1,1
Bakłażany	25	3,0	229	0,23	2	22	1	3,5
Papryka czerw.	31	2,1	211	0,11	128	46	157	4,9
Papryka ziel.	20	1,7	175	0,12	80	10	18	7,4
Pomidory czerw.	18	1,2	237	0,11	14	15	42	7,9
Cebula	40	1,7	146	0,13	7	19	0	0,4
Ziemniaki	74	1,9	426	0,15	11	16	0	-
RWS 15%		3	300	0,3	12	30	120	11,3

Uwaga: na zielono – znaczące ilości składników > 15% RWS (źródło); na czerwono – ilości > 30% RWS (wysoka zawartość); na fioletowo ilości składników powyżej 100% RWS

Tabela 2. Kaloryczność i zawartość składników odżywczych w owocach mających w Polsce szczególne znaczenie gospodarcze lub bardzo bogatych w składniki odżywcze. Dane dla 100 g części jadalnych, wg danych USDA (2015 a).

Gatunek warzyw	Kaloryczność (kcal)	Błonnik (g)	Potas (mg)	Mangan (mg)	Wit. C (mg)	Foliany (µg)	Wit. A(µg)	Wit. K (µg)
Jabłka	58	2,4	108	0,04	5	3	3	2,0
Gruszki	63	3,1	118	0,05	4	7	1	4,5
Agrest	44	4,3	198	0,14	28	6	15	
Bez czarny	73	7,0	280	-	36	6	30	-
Borówka wysoka	57	2,4	77	0,34	10	6	3	19,3
Jeżyna	43	5,3	162	0,65	21	25	11	19,8
Malina	52	6,5	151	0,67	26	21	2	7,8
Porzeczka biała i czerwona	56	4,3	275	0,19	41	8	2	11,0
Porzeczka czarna	63	4,3	322	0,26	181	8	12	-
Truskawki	32	2,0	15	0,39	59	24	1	2,2
Winogrona	69	0,9	191	0,07	3	2	3	14,6
Żurawina	46	4,6	85	0,36	13	1	3	5,1
Wiśnie	50	1,6	173	0,11	10	8	64	2,1
Czereśnie	63	2,1	222	0,07	7	4	3	2,1
Brzoskwinie	39	1,5	190	0,06	7	4	16	2,6
Morele	48	2,0	259	0,08	10	9	96	3,3
Nektaryny	44	1,7	201	0,05	5	5	17	2,2
Śliwki	46	1,4	157	0,05	10	5	17	6,4
Orzechy włoskie	654	6,7	441	3,41	1	98	1	2,7
Orzechy laskowe	628	9,7	680	6,18	6	113	1	14,2
RWS 15%		3	300	0,3	12	30	120	11,3

Uwaga: na zielono – znaczące ilości składników > 15% RWS (źródło); na czerwono – ilości > 30% RWS (wysoka zawartość); na fioletowo ilości składników powyżej 100% RWS

Warto też zwrócić uwagę na fakt, że nawet jeśli jakiś gatunek owoców bądź warzyw nie jest źródłem witaminy czy składnika mineralnego, bo zawiera je w mniejszej ilości niż wynosi wartość RWS, to jednak może uzupełniać niedobory danego składnika w połączeniu z innym produktem/produktami. Jako szczególnie wartościowe pod względem możliwości dostarczenia do organizmu znaczących ilości wielu składników odżywczych należy wskazać produkty z owoców i warzyw dostępne na rynku w skoncentrowanej formie. Należą do nich na przykład pomidory w przetworach (w postaci keczupów, sosów, soków pomidorowych i wielowarzywnych), a także warzywa

i owoce suszone. Produkty tego typu zawierają w swoim składzie wielokrotność składników odżywczych występujących w surowcach, i zwykle stają się już znaczącym źródłem wielu składników odżywczych [Kunachowicz i in., 2017].

Owoce i warzywa jako źródło fitozwiązków

Fitozwiązki to bardzo liczna grupa związków organicznych wytwarzanych przez rośliny, w tym przez owoce i warzywa. Według aktualnego stanu wiedzy fitozwiązków nie klasyfikuje się jako niezbędnych składników odżywczych w diecie człowieka, uważa się jednak, że wiele z nich korzystnie wpływa na zdrowie [Liu, 2003]. Wśród najważniejszych grup fitozwiązków, nazywanych też wtórnymi metabolitami roślin, charakterystycznych dla owoców i warzyw, należy wymienić między innymi polifenole (flawonoidy, flawonole, flawanole, proantocyjanidiny, procyanidiny), glukozynolany, fitynę, oligosacharydy, betalainy, karetonoidy, saponiny, terpeny, fitosterole, alkaloidy, kumaryny. Liczbę tych związków szacuje się na kilkadziesiąt tysięcy, samych flawonoidów zidentyfikowano około 8000 [Zalega i Szostak-Węgierek, 2013]. Wiele związków z tej grupy jest silnymi antyoksydantami, a liczne badania sugerują, że spożywanie pokarmów i napojów bogatych w fitozwiązki może pomagać hamować procesy zapalne, pobudzać układy enzymatyczne i krążenie krwi, czy stymulować układ odpornościowy [Rawel i Kulling, 2007]. Niektóre z fitozwiązków mają potwierdzone działanie antybakteryjne i antywirusowe [Robles-Sardin i in., 2010]. W Tabeli 3 przedstawiono zestawienie przykładowych możliwych korzyści związanych z konsumpcją wybranych kategorii produktów roślinnych.

Niestety poza grupami fitozwiązków o udowodnionym korzystnym wpływie na zdrowie człowieka, niektóre z nich mogą mieć niekorzystny wpływ na funkcjonowanie organizmu. Substancje te występujące w niektórych gatunkach owoców i warzyw, określa się jako substancje antyodżywcze, a fakt ich występowania w produktach roślinnych, może być niekiedy powodem do kwestionowania znaczenia odżywczego owoców i warzyw. Należy jednak podkreślić, że w większości przypadków ilość substancji antyodżywczych zawartych w częściach jadalnych jest na tyle mała, że w praktyce mogą one stanowić realne zagrożenie dla zdrowia, jedynie w przypadku bardzo jednostronnego odżywiania się daną grupą warzyw [Seńczuk, 2006].

Wśród substancji antyodżywczych wymienia się między innymi: lektyny, fityniany, taniny, związki wolotwórcze i inne. Taniny mają zdolność do wiązania metali takich jak żelazo i cynk, zmniejszając absorpcję tych składników przez organizm. Mogą także blokować enzymy trawienne i powodować strącanie się białek. Z kolei warzywa kapustne, takie jak kapusta, brokuły i kalafior, jarmuż, zawierają związki określane jako goitrogeny (np. glukozynolany), które zmniejszają biodostępność jodu lub przeszkadzają

w biosyntezie hormonu tarczycy. Za rośliny szczególnie bogate w substancje antyodżywcze uważa się rośliny strączkowe, które jednocześnie należą do najbardziej zasobnych w składniki odżywcze. Do jednych z najbardziej rozpowszechnionych substancji antyodżywczych zalicza się szczawiany, które przyczyniając się do zaburzenia bilansu wapnia w organizmie mogą być przyczyną wystąpienia kamicy nerkowej. Źródłem szczawianów są gatunki takie jak: botwina, buraki, rabarbar, szczaw, szpinak, ale także kawa, herbata i kakao. Gotowanie warzyw przyczynia się do znacznego zmniejszenia zawartości kwasu szczawiowego [Chai i Liebman, 2005], a dobre zaopatrzenie w wapń i witaminę D skutecznie neutralizuje jego niekorzystne działanie [Prezioso i in., 2015].

Tabela 3. Fitozwiązki w produktach roślinnych i ich możliwe korzyści zdrowotne

Produkty	Fitozwiązki	Możliwe korzyści zdrowotne
Truskawki i inne czerwone owoce, czerwone wino, borówki amerykańskie	Antocyjany (rodzaj flawonoidów)	Rozszerzanie naczyń krwionośnych, indukcja śmierci komórek rakowych, poprawa wrażliwości na insulinę, działanie neuroprotektoryjne
Czerwone wino, sok winogronowy, ekstrakty z winogron, kakao, orzeszki ziemne	Proantocyjanidyny, resweratrol	Hamowanie utleniania cholesterolu LDL i stanów zapalnych
Czosnek, cebula, pory, oliwki, szalotka	Siarczki, tiole	Zmniejszony poziom cholesterolu LDL, działanie przeciwnowotworowe
Marchew, pomidory, inne pomarańczowe, żółte i czerwone owoce i warzywa	Karotenoidy, takie jak likopen i beta-karoten	Neutralizacja wolnych rodników powodujących uszkodzenie komórek
Warzywa kapustne, takie jak brokuły i jarmuż, chrzan	Izotiocyjaniiny (sulforafan)	Neutralizacja wolnych rodników, które powodują uszkodzenia komórek i ochrona przed niektórymi rodzajami raka
Zielona i czarna herbata, kakao	Katechiny, epikatechiny (rodzaje flawonoidów)	Rozszerzenie naczyń krwionośnych, poprawa przepływu krwi do mózgu, zwiększona wrażliwość na insulinę
Soja, mleko sojowe, tofu	Izoflawony (genistina, daidzeina)	Obniżenie ciśnienia krwi, i rozszerzenie naczyń krwionośnych

Źródło: (Webb, 2013; <http://www.todaysdietitian.com/newarchives/090313p70.shtml>)

Owoce i warzywa a możliwe zagrożenia dla zdrowia

Wśród części społeczeństwa występują obawy, że w owocach i warzywach mogą występować pozostałości środków ochrony roślin. W Unii Europejskiej prawodawstwo nakłada ograniczenia na ilości pozostałości tych środków, tak aby nie szkodziły one konsumentom [Regulation (EC) No 396/2005]. W Polsce nadzór nad kontrolą poziomu pozostałości środków ochrony roślin sprawuje urządowo Państwowa Inspekcja Ochrony Roślin i Nasiennictwa (PIORIN). Dla ograniczenia poziomu pozostałości w produkcji owoców i warzyw stosuje się między innymi integrowane i ekologiczne metody produkcji. Badania przeprowadzone między innymi w USA wykazały, że istnieje olbrzymia różnica pomiędzy korzyściami wynikającymi ze spożycia owoców i warzyw a ewentualnym zagrożeniem wynikającym z obecności na dopuszczalnym poziomie w produktach pozostałości środków ochrony [Reiss i in., 2012]. Ewentualnie większym zagrożeniem dla zdrowia niektórych ludzi mogą stanowić związki uczulające zawarte np. w orzechach (szczególnie ziemnych) czy selerze. Od 2016 roku produkty zawierające te składniki muszą być odpowiednio oznaczone [Rozporządzenie 1169/2011]. Alergie mają jednak zwykle podłoże genetyczne, co oznacza indywidualne reakcje konsumentów na produkty stanowiące podstawę pożywienia, takie jak jabłka czy cebula, a także wiele innych popularnych owoców i warzyw [Borchers i in., 2010].

Zmiany wartości odżywczych w procesach przetwarzania

Tylko nieliczne gatunki owoców i warzyw rosnące w umiarkowanej strefie klimatycznej mogą być przechowywane w stanie nadającym się do spożycia przez dłuższy okres czasu, co wiąże się z koniecznością utrwalania i przetwarzania surowców występujących sezonowo. Warunkiem jak najlepszego zachowania wartości odżywczych i właściwości prozdrowotnych jest prawidłowe dobranie technik utrwalania i przetwarzania z uwzględnieniem specyfiki poszczególnych gatunków. Za najbardziej nietrwałe składniki pożywienia uważa się witaminy, wśród których szczególnie podatny na procesy utleniania jest kwas askorbinowy, czyli witamina C, która ma bardzo duże znaczenie dla sprawnego funkcjonowania człowieka. Stabilność witaminy C, ale także innych witamin w przetworach zależy od wielu czynników, między innymi: temperatury, wilgotności, dostępu tlenu, obecności składników utleniających bądź redukujących, obecności jonów metali i interakcji różnych czynników [PubChem, 2018]. Najkorzystniejszym sposobem chronienia witamin w procesie utrwalania owoców i warzyw, niezależnie od rodzaju techniki, jest proces mrożenia [Bouzari i in., 2015]. Przyjmuje się, że w temperaturze poniżej -18°C , większość witamin jest dość stabilna w produktach mrożonych w okresie około 1 roku, a konstruuąc jadłospisy mrożonkom przypisuje się taką samą wartość odżywczą jak produktom świeżym [USDA, 2015 b].

Metody wysokotemperaturowe utrwalania (w tym także np. gotowanie warzyw) przyczyniają się do strat niektórych witamin, w tym wspomnianej wyżej witaminy C i biotyny, ale np. witamina K jest praktycznie stabilna w procesie obróbki termicznej. Prekursor witaminy A, β karoten jest mało stabilny w kwaśnym środowisku przy dostępie tlenu i światła, ale jego stabilność wzrasta w obecności kwasu askorbinowego. Warto podkreślić, że β karoten jest bardziej przyswajalny po obróbce termicznej pomidorów niż w świeżych owocach. Analogicznie zmienia się przyswajalność likopenu, a aktywność przeciwutleniająca wysokoprzetworzonych produktów z pomidora jest wyższa niż dla surowca [Dewanto i in., 2002]. Zwykle jednak procesy utrwalania i przetwarzania owoców i warzyw powodują zmniejszanie się ich wartości odżywczych. Na przykład blanszowanie, które jest jedną z podstawowych operacji technologicznych, nieodzowną w przetwórstwie warzyw, wpływa na straty substancji rozpuszczalnych. Z kolei w procesie produkcji soków klarownych obróbka enzymatyczna prowadzi do rozkładu substancji pektynowych, które następnie są usuwane w procesie klarowania, a wraz z nimi wiele substancji bioaktywnych (związków fenolowych, triterpenów). Postęp wiedzy w tym zakresie, skłania producentów do modyfikowania struktury produktów, oferując oprócz soków klarownych i ich koncentratów, soki naturalnie mętne NFC (not from concentrate), soki na bazie przecierów określanych m.in. jako soki przecierowe, a także nową kategorię napojów o nazwie „smoothie” [Markowski i in., 2017].

Odrębną kategorię wśród przetworów z owoców i warzyw stanowią produkty suszone. W zależności od zastosowanej techniki suszenia, straty składników bioaktywnych mogą się wahać od 5 do 95% [Santos i Silva, 2008; Bonazzi i Dumoulin, 2014]. Jednak składniki niewrażliwe na temperaturę i utlenianie, takie jak błonnik czy mikro i makroelementy, na skutek odparowania wody ulegają naturalnemu zagęszczeniu co sprawia, że produkty tego typu mogą być bardzo pożądanym składnikiem diety [Vinson i in., 2005]. Fakt ten sprawia, że aktualnie susz przekąskowy z owoców i warzyw to jeden z bardziej dynamicznych segmentów rynku konsumenta, podążający za aktualnymi trendami żywieniowymi, kojarzony ze sposobem na zdrowe odżywianie [Sijtsema i in., 2012; Orrego i in., 2014].

Podsumowanie

Podjęcie do zaleceń żywieniowych zmienia się wraz z rozwojem nauki o żywności i żywieniu. Aktualnie owoce i warzywa zalicza się do produktów o wysokiej gęstości odżywczej i uważa się, że powinny one stanowić podstawowy składnik zrównoważonej diety. Owoce i warzywa to nie tylko źródło niezbędnych dla ludzkiego organizmu składników odżywczych, takich jak witaminy, minerały czy błonnik pokarmowy. Z punktu widzenia profilaktyki chorób dietozależnych, równie istotna jest rola owoców i warzyw w dostarczaniu składników bioaktywnych, których

nie zalicza się do niezbędnych składników odżywczych, jednak to w nich upatruje się szansę na zahamowanie eskalacji zachorowań na choroby układu sercowo-naczyniowego oraz zmniejszenie ryzyka zachorowań na nowotwory.

Opracowanie wykonano w ramach Programu Wieloletniego na lata 2015–2020, finansowanego przez Ministerstwo Rolnictwa i Rozwoju Wsi. Zadanie 3.5: Rozwój innowacyjnych technologii przechowywania i wykorzystania owoców i warzyw.

Literatura

1. Ambrożewicz E., Skrzydlewska E. (2009). Antyoksydacyjne właściwości czarnej porzeczki. *Farmaceutyczny Przegląd Naukowy*, 10, 30-34.
2. Aron P.M., Kennedy J.A. (2008). Flavan-3-ols: nature, occurrence and biological activity. *Molecular Nutrition Food Research*, 52, 70-104.
3. Aune D., Giovannucci E., Boffetta P., Fadnes L.T., Keum N., Norat T., Greenwood D.C., Riboli E., Vatten L.J., Tonstad S. (2017). Fruit and vegetable intake and the risk of cardiovascular disease, total cancer and all-cause mortality – a systematic review and dose-response meta-analysis of prospective studies. *International Journal of Epidemiology*, 46(3), 1029-1056.
4. Boeing H., Bechthold A., Bub A., Ellinger S., Haller D., Kroke A., Leschik-Bonnet E., Mueller M.J., Oberritter H., Schulze M., Stehle P., Watzl B. (2012). Critical review: vegetables and fruit in the prevention of chronic diseases. *European Journal of Nutrition*, 51, 637-663.
5. Bonazzi C., Dumoulin E. (2014). *Quality Changes in Food Materials as Influenced by Drying Processes*. W: *Modern Drying Technology*, Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA
6. Borchers A., Teuber S.S., Keen C.L., Gershwin M.E. (2010). Food Safety. *Clinical Reviews in Allergy & Immunology*, 39, 95-14.
7. Bouzari A., Holstege D., Barrett D.M. (2015). Vitamin retention in eight fruits and vegetables: A comparison of refrigerated and frozen storage. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 63, 957-962.
8. Chai W., Liebman M. (2005). Effect of Different Cooking Methods on Vegetable Oxalate Content. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(8), 3027-30.
9. Dewanto V., Wu X., Adom K.K., Liu R.H. (2002). Thermal processing enhances the nutritional value of tomatoes by increasing total antioxidant activity. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 50, 3010-3014.
10. IERiGŻ-PIB (2017). Rynek Owoców i Warzyw stan i perspektywy. *Analizy Rynkowe Nr 51*. Red. B. Nosecka.
11. Liu R.H. (2003). Health benefits of fruit and vegetables are from additive and synergistic combinations of phytochemicals. *American Journal of Clinical Nutrition*, 78, 517S-520S.
12. IŻŻ (2016). Piramida zdrowego żywienia i aktywności fizycznej. Pod kier. Jarosz M. i wsp. <http://www.izz.waw.pl/attachments/article/555/Piramida%20IŻŻ%201.pdf> (dostęp on-line: 15.06.2018 r.).
13. IŻŻ (2017). Instytut Żywności i Żywienia 2017. Normy żywienia dla populacji Polski. Redaktor naukowy prof. dr hab. M. Jarosz. www.izz.waw.pl. (dostęp on-line: 15.06.2018), 377 s.
14. Kunachowicz H., Nadolna I., Iwanow K., Przygoda B. (2017). Tabele składu i wartości odżywczej żywności. Wydawnictwo: PZWL.
15. Markowski J., Mieszczakowska-Frać M., Celejewska K., Rutkowski K., Płocharski W. (2017). Jakość smoothies jabłkowych w zależności od użytej odmiany. *Przemysł Fermentacyjny i Owocowo-Warzywny*, 61(2), 2-7.
16. Orrego C.E., Salgado N., Botero C.A. (2014). Developments and Trends in Fruit Bar Production and Characterization. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 54, 84-97.
17. Oyebo O., Gordon-Dseagu V., Walker A., Mindell J.S. (2014). Fruit and vegetable consumption and all-cause, cancer and CVD mortality: analysis of Health. Survey for England data. *Journal of Epidemiology and Community Health*, 68, 856-862.

18. Parada J., Aguilera J.M. (2007). Food microstructure affects the bioavailability of several nutrients. *Journal of Food Science*, 72, 21-32.
19. Prezioso D., Strazzullo P., Lotti T., Bianchi G., Borghi L., Caione P. i in. (2015). Dietary treatment of urinary risk factors for renal stone formation. A review of CLU Working Group. *The Archives of Italian Urology and Andrology*, 87(2), 105-120.
20. PubChem. Open Chemistry Database. Naciona Library of Medicine (2018). Ascorbic Acid. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/54670067#section=Top> (dostęp on-line: 15.06.2018 r.).
21. Rawel H.M., Kulling S.E. (2007). Nutritional contribution of coffee, cacao and tea phenolics to human health. *Journal of Consumer Protection and Food Safety*, 2, 399-406.
22. Regulation (EC) No 396/2005. PESTICIDES EU-MRLs. <http://ec.europa.eu/food/plant/pesticides/eu-pesticides-database/public/?event=homepage&language=EN> (dostęp on-line: 15.06.2018 r.).
23. Reiss R., Johnston J., Tucker K., DeSesso J.M., Keen C.L. (2012). Estimation of cancer risks and benefits associated with a potential increased consumption of fruits and vegetables. *Food and Chemical Toxicology*, 50, 4421-4427.
24. Rezolucja Parlamentu UE (2008). Rezolucja Parlamentu Europejskiego z dnia 25 września 2008 r. w sprawie białej księgi na temat zagadnień zdrowotnych związanych z odżywianiem, nadwagą i otyłością (2007/2285(INI)) <http://www.lex.pl/akt/-/akt/dz-u-ue-c-2010-8e-97> (dostęp on-line: 15.06.2018 r.).
25. Robles-Sardin A.E., Bolanos-Villar G.A., González-Aguilar G.A., de la Rosa L.A. (2010). *Flavonoids and Their Relation to Human Health. W: Fruit and Vegetable Phytochemicals. Chemistry, Nutritional Value, and Stability.* Willey-Blackwell, A John Wiley & Sons, Inc., Publication.
26. Rozporządzenie Parlamentu Europejskiego i Rady (UE) nr 1169/2011 z dnia 25 października 2011 r. w sprawie przekazywania konsumentom informacji na temat żywności. <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/PL/TXT/HTML/?uri=CELEX:32011R1169&from=PL> (dostęp on-line: 15.06.2018 r.).
27. Santos P.H.S., Silva M.A. (2008). Retention of vitamin C in drying processes of fruits and vegetables - A review. *Drying Technology*, 26(12), 1421-1437.
28. Seńczuk W. (2006). *Modern toxicology.* Warszawa, PZWL.
29. Sijtsema S.J., Jesionowska K., Symoneaux R., Konopacka D., Snoek H.M. (2012). Perceptions of the health and convenience characteristics of fresh and dried fruits. *LWT - Food Science and Technology*, 49, 275-281.
30. Slavin J.L., Lloyd B. (2012). Health benefits of fruits and vegetables. *American Society for Nutrition. Advances in Nutrition*, 3(4), 506-516.
31. Smeriglio A., Barreca D., Bellocco E., Trombetta D. (2016). Review: Chemistry, Pharmacology and Health Benefits of Anthocyanins. *Phytotherapy Research*, 30, 1265-1286.
32. Tsuda T. (2012). Dietary anthocyanin-rich plants: Biochemical basis and recent progress in health benefits studies. *Molecular Nutrition Food Research*, 56, 159-170.
33. USDA (2015 a) National Nutrient Database for Standard Reference, Release 28 (2015). Composition of Foods Raw, Processed, Prepared (dostęp on-line: 15.06.2018). https://www.ars.usda.gov/ARUserFiles/80400525/Data/SR/SR28/sr28_doc.pdf
34. USDA (2015 b). Dietary guidelines for Americans 2015-2020 eighth edition. https://health.gov/dietaryguidelines/2015/resources/2015-2020_Dietary_Guidelines.pdf (dostęp on-line: 15.06.2018)
35. Wallace T.C. (2011). Anthocyanins in cardiovascular disease. *American Society for Nutrition. Advances in Nutrition*, 2, 1-7.
36. Webb D. (2013). Phytochemicals' Role in Good Health. *Today's Dietitian*, 15(9), 70.
37. WHO (2003). Diet, nutrition and the prevention of chronic diseases. Report of a Joint WHO/FAO Expert Consultation. Geneva: WHO Technical Report Series 916.
38. Vinson J.A., Zubik L., Bose P., Samman N., Proch J. (2005). Dried fruits: excellent *in vitro* and *in vivo* antioxidants. *Journal of the American College of Nutrition*, 24(1), 44-50.
39. Zafira-Stone S., Yasmin T., Bagchi M., Chatterjee A., Vinson J.A., Bagchi D. (2007). Berry anthocyanins as novel antioxidants in human health and disease prevention. *Molecular Nutrition Food Research*, 51, 675-683.
40. Zalega J., Szostak-Węgierek D. (2013). Żywnie w profilaktyce nowotworów. Część I. Polifenole roślinne, karotenoidy, błonnik pokarmowy. *Problemy higieny i epidemiologii*, 94(1), 41-49.

ŁUKASZ SKOCZYLAŚ¹, MARTA LISZKA-SKOCZYLAŚ²,
DANIEL ŻMUDZIŃSKI², DAGMARA RUDNIK¹

¹Katedra Technologii Owoców, Warzyw i Grzybów, ²Katedra Inżynierii i Aparatury Przemysłu Spożywczego
Wydział Technologii Żywności, Uniwersytet Rolniczy w Krakowie

BIOFORTYFIKACJA ROŚLIN UPRAWNYCH JAKO METODA WALKI Z DEFICYTEM SKŁADNIKÓW MINERALNYCH W DIECIE CZŁOWIEKA

Streszczenie

Od kilkudziesięciu lat ogólnoswiatowa gospodarka żywnościowa stoi przed poważnym problemem dotyczącym niedostatecznej podaży składników mineralnych (Fe, Zn, Ca, Mg, Cu, Se i I) w diecie kilku miliardów ludzi. Problem ten związany jest m. in. z ich niewystarczającym transferem z gleb do roślin, a co za tym idzie do łańcucha pokarmowego. Światowa Organizacja Zdrowia wraz z rządami poszczególnych krajów prowadzą szeroko zakrojone programy ukierunkowane na walkę z deficytem wspomnianych składników mineralnych, który jest bezpośrednim powodem zaburzeń w funkcjonowaniu organizmu czy wręcz endemicznego występowania wielu jednostek chorobowych. Pośród powszechnie dostępnych metod uzupełnienia niedoboru mikroelementów w diecie wyróżnić można suplementację i fortyfikację pasz zwierząt hodowlanych oraz roślin będących pokarmem człowieka.

W pracy scharakteryzowano fortyfikację roślin uprawnych z wykorzystaniem metod agrotechnicznych (nawożenie doglebowe i dolistne) w dwa pierwiastki – jod i selen – szczególnie ważne dla prawidłowego rozwoju i funkcjonowania organizmu człowieka.

1. Biofortyfikacja roślin uprawnych

Biofortyfikacja roślin jest metodą produkcji oraz hodowli roślin, która polega na wzbogacaniu surowców roślinnych w składniki mineralne w celu poprawienia odżywczej wartości gotowego produktu. Składniki odżywcze w jakie roślina w trakcie wzrostu jest uzupełniana znajdują się w podstawowej diecie człowieka jednak często w niewystarczających ilościach. Może to być przyczyną powstawania zjawiska określanego mianem „utajonego głodu”. Biofortyfikacja zwiększa nie tylko zawartość składników pokarmowych w roślinach, ale także ich biodostępność. Produkty wytwarzane z surowców roślinnych biofortyfikowanych mają bardzo korzystny wpływ na zdrowie organizmu ludzkiego, ponieważ pomagają w zapobieganiu niedoborów najważniejszych składników mineralnych i odżywczych [Strzetelski, 2005; White i Broadley, 2005; Strzetelski, 2011].

Metoda biofortyfikacji na przestrzeni ostatnich lat jest uznawana za jedną z najszybszych, najtańszych i najbardziej naturalnych metod, które mogą poprawiać

zasobność roślin w składniki mineralne. Najbardziej rozpowszechnionymi metodami wzbogacania surowców jest dolistna aplikacja pierwiastków oraz nawożenie gleb. Biofortyfikacja jest także doskonałym sposobem produkcji tzw. żywności funkcjonalnej, która ma za zadanie odżywiać organizm człowieka, zapobiegać chorobom oraz korzystanie wpływać na zdrowie, m.in. przeciwzapalnie lub wspomagając układ odpornościowy [Smoleń, 2013].

Na całym świecie z powodu braku niezbędnych składników odżywczych cierpi około 2 miliardy ludzi. W wielu krajach nadal występują niedobory pierwiastków oraz witamin, które są niezbędne do rozwoju człowieka, pomimo rosnącej świadomości ludzi dotyczącej zdrowego odżywiania i stylu życia. Do prawidłowego funkcjonowania człowiek potrzebuje cały szereg składników mineralnych, które powinny być dostarczane przez odpowiednio zbilansowaną dietę. Składniki, których podaż jest najmniejsza to głównie jod, żelazo, magnez, wapń, selen, miedź i cynk, z czego żelazo, cynk, jod oraz selen, których niedobór jest najbardziej rozpowszechniony. Zjawiska „ukrytego głodu” to problem, który dotyczy 28% ludzi na świecie, jednak w największym stopniu dotyka dzieci w wieku szkolnym. Niedobór witamin oraz składników mineralnych powoduje osłabienie układu odpornościowego, czego efektem jest większa skłonność do zachorowań i infekcji, także niesprawność fizyczną, a nawet umysłową [Bouis i Welch, 2010].

Głównym powodem braku odpowiedniej ilości składników mineralnych jest nieodpowiednia dieta. Konsumenci dla ułatwienia bardzo często korzystają z żywności przetworzonej, która podczas przygotowywania traci znaczne ilości ważnych mikroelementów. Uniemożliwia to dostarczenie organizmowi właściwej ich dawki. Problem stanowi także nieurozmaicony jadłospis, ponieważ często sięgamy po produkty znane, które nie pokrywają w całkowitym stopniu naszego zapotrzebowania w mikroelementy i witaminy. Na zbyt monotonną dietę ma także wpływ pora roku, gdyż w okresie jesienno–zimowym jest ona dużo uboższa w owoce i warzywa, które zawierają największe ilości tych składników [White i Broadley, 2005].

2. Biofortyfikacja roślin w jod

Jod jest jednym z najważniejszych pierwiastków, potrzebnych do prawidłowego funkcjonowania nie tylko organizmu ludzkiego ale także zwierząt. Dawka minimalna jodu, jaką człowiek powinien przyjmować w ciągu dnia to 1µg na 1 kg masy ciała, natomiast najkorzystniej jest dostarczać go w ilości 95-150 µg na dobę. Jest on niezbędny przy produkcji hormonów tarczycy, od których zależy funkcjonowanie i rozwój mózgu, przysadki mózgowej oraz układu nerwowego [Jarosz, 2012]. Jego brak w codziennej diecie powoduje wiele zaburzeń metabolicznych oraz fizjologicznych, m.in.: może powodować problemy z tarczycą oraz tworzyć wole

endemiczne. Zaburzenia związane z niedoborem jodu zostały zdefiniowane jako IDD (Iodine Deficiency Disorders) i występują niemal w każdym kraju na świecie [Strzetelski, 2011]. Biofortyfikacja roślin w ten pierwiastek może tworzyć surowce, będące potencjalnym źródłem przyswajalnego przez organizm jodu.

Jod znajdujący się w roślinach pochodzi z górnych warstw gleby, do której dociera podczas opadów atmosferycznych. Jego zawartość w roślinach to w przybliżeniu 1 mg/kg suchej masy, jednak zależy od wielu czynników, m.in.: zdolności roślin do jego absorpcji, zastosowanych nawozów (głównie azotowych) oraz zawartości innych pierwiastków, z których najważniejszy jest selen [Ziemiański i in., 2001]. Do najczęściej wzbogacanych roślin należą warzywa liściowe, gdyż liście są głównym akceptorem tego pierwiastka w roślinie [Strzetelski, 2005; Weng i in., 2013].

Wzbogacanie surowców w mikroskładniki wpływa nie tylko na zawartość konkretnego składnika w roślinie, ale także na inne wartości, takie jak: zawartość cukrów, suchej masy, wolnych aminokwasów, kwasu askorbinowego i innych.

Najskuteczniejszą biofortyfikację w przypadku warzyw liściowych zaobserwowano w przypadku sałaty [Ledwożyw-Smoła i in., 2011]. Zastosowanie KIO_3 w znaczący sposób spowodowało wzrost zawartości jodu. Natomiast niekorzystnym zjawiskiem było zmniejszenie ilości kwasu askorbinowego oraz mniejszy poziom cukrów rozpuszczalnych w surowcu. Zastosowana biofortyfikacja nie miała większego wpływu na zawartość pozostałych składników, takich jak: sucha masa, wolne aminokwasy oraz związki fenolowe. W wyniku przeprowadzonych badań, jak podają autorzy, sposób nawożenia sałaty przy pomocy pożywki z jodem w dużym stopniu hamował jej rozrost, przy czym najbardziej uszkodzoną strukturę roślin i najniższą ich masę zaobserwowano w pożywce o najwyższym stężeniu jodu.

Próby wzbogacania roślin w jod prowadzono także na innych warzywach. Wielkość oraz struktura plonu pomidora nie zależała od formy jodu w jaką roślina była wzbogacana, jednak istotny wpływ zaobserwowano przy takich parametrach jak sucha masa, kwasowość ogólna zawartość cukrów rozpuszczalnych, związków fenolowych i β -karotenu. W przypadku kwasowości ogólnej i zawartości cukrów rozpuszczalnych zastosowanie formy KI powodowało zmniejszenie ww. parametrów w pomidorze, natomiast formy KIO_3 ich wzrost. Niezależnie od zastosowanej formy jodu zawartość kwasu askorbinowego oraz związków fenolowych istotnie wzrosły. Natomiast niekorzystnym zjawiskiem okazał się wpływ takiej dawki ($1 \text{ mg I} \cdot \text{dm}^{-3}$) pierwiastka na zawartość β -karotenu w obu przypadkach [Smoła i in. 2011].

Niezalecane jest stosowanie zbyt wysokich dawek jodu w nawozach gdyż przekroczenie dopuszczalnych stężeń może mieć charakter toksyczny i powodować choroby roślin, prowadzić do redukcji ich biomasy, a w efekcie może nawet

spowodować ich zamieranie [Mackowiak i in., 2005; Smoleń i Sady, 2011]. W praktyce dużą rolę odgrywa również forma w jakiej dawkowany jest on do rośliny. Forma jodkowa (I) jest bardziej toksyczna dla roślin niż forma jodanowa (IO₃⁻) [Smoleń, 2013].

Biofortyfikacja w mikroskładniki może mieć wpływ nie tylko na zawartość głównych składników (cukrów, kwasu askorbinowego, związków fenolowych czy wolnych aminokwasów) w roślinie, ale także na zawartości innych pierwiastków. Wzbogacając rośliny w konkretny pierwiastek możemy otrzymać zwiększone lub zmniejszone ilości pozostałych mikroskładników zawartych w surowcu. Przykładem tego mogą być badania nad biofortyfikacją marchwi [Smoleń, 2013].

Smoleń [2013] w swoich badaniach przedstawił wpływ doglebowego nawożenia jodu w formie KI i dolistnej aplikacji jodu w formie KIO₃ na całkowitą zawartość N, P, K, Mg, Ca, S, Na w liściach i korzeniach spichrzowych uprawianej marchwi. Wyniki pokazują istotny wpływ oraz różnice między tymi dwoma sposobami biofortyfikacji rośliny w związku jodu na pozostałe jej składniki mineralne. Doglebowe nawożenie oraz aplikacja dolistna związków jodu, w porównaniu z próbą kontrolną (brak nawożenia), miała wpływ na wzrost zawartości azotu w roślinie. Przy analizie zmian zawartości składników mineralnych w korzeniach spichrzowych marchwi podczas aplikacji doglebowej (jod w formie KI) zaobserwowano także wzrost ilości potasu. Nieznacznym wahaniom uległy wartości podane dla magnezu, siarki oraz wapnia, natomiast przy ilości fosforu oraz sodu wartości te zależały od stężenia jodu. Podobne wyniki uzyskano przy dolistnej aplikacji jodu (w formie KIO₃), gdzie zawartość: azotu, potasu, sodu, wapnia i fosforu wzrosła, natomiast ilość magnezu oraz siarki minimalnie odbiega od próbki kontrolnej. W powyższych badaniach zauważono również duży wzrost w zawartości żelaza w korzeniach spichrzowych marchwi, niezależnie od stężenia i formy jodu. Przy wzbogacaniu dolistnym jak i doglebowym oprócz zawartości żelaza wzrosła także ilość boru, a zmalała ilość molibdenu. Przy formie KI zawartość cynku oraz manganu wyniki była największa przy dawce 1,0 kg I·ha⁻¹ dla cynku i przy 2,0 kg I·ha⁻¹ dla manganu. W dolistnej aplikacji formą KIO₃ najniższa dawka jodu (0,02 kg I·ha⁻¹) była najlepsza dla miedzi, a najwyższa (2,0 kg I·ha⁻¹) była najlepsza dla żelaza i cynku, Zawartości boru i manganu przy tym sposobie aplikacji w przypadku każdej dawki ulegały podwyższeniu, natomiast ilość molibdenu zmalała, przy czym najkorzystniejszym stężeniem była najniższa dawka jodu 0,02 kg I·ha⁻¹.

Podczas analizy wyników otrzymanych z przeprowadzonych doświadczeń należy wziąć pod uwagę fakt, że marchew wykazuje niewielką możliwość gromadzenia jodu w swoich korzeniach spichrzowych [Dai i in., 2004].

Wzbogacanie surowców w jod jest zależne od kilku innych czynników, które mają wpływ na pobieranie innych mikro- i makroskładników lub pierwiastków śladowych.

Takimi czynnikami mogą być przykładowo: dawki oraz formy aplikacji pierwiastka do roślin, sposoby wzbogacania, odmiany roślin, ich skłonności do pobierania z gleb różnych składników mineralnych czy warunki w jakich przeprowadzona została uprawa [Smoleń i Sady, 2012].

Podsumowując, okazuje się, że biofortyfikacja w jod, może wpływać na zawartość innych składników mineralnych. Zmiany te mogą być nie tylko pozytywne, ale także negatywne, gdyż mogą wpływać na obniżenie odżywienia roślin w inne ważne mikro- oraz makroelementy, a tym samym zmniejszenia zasobności roślinnych produktów spożywczych.

3. Biofortyfikacja roślin w selen

Selen to mikroelement niezbędny do prawidłowego funkcjonowania organizmów człowieka i zwierząt, oraz niektórych mikroorganizmów [Ferm i in., 2007]. Pierwiastek ten charakteryzuje się silnymi właściwościami przeciwutleniającymi. Wchodząc w skład enzymów, np. peroksydazy glutationowej, bierze udział w rozkładzie nadtlenu wodoru i chroni przed utlenieniem lipidów [Kyriakopoulos i. Behne, 2002]. Selen bierze również udział w regulacji syntezy hemu [Maines i Kappas, 1976] oraz pełni ważne funkcje w stymulacji układu odpornościowego [Rayman, 2000; Zagrodzki, 2004] i detoksykacji metali ciężkich w organizmie [Wilber, 1980; CCME, 2009]. Odgrywa on również znaczącą rolę w zapobieganiu chorobom nowotworowym i sercowo-naczyniowym. Badania epidemiologiczne potwierdzają, że długotrwały niedobór tego mikroelementu w organizmie wywołuje szereg zaburzeń i schorzeń, określanych jako hiposelenoza. Deficyt selenu w diecie zwiększa częstotliwość występowania chorób sercowo-naczyniowych, prowadzi do zaburzeń w pracy tarczycy, a u kobiet w ciąży może powodować nieodwracalne zmiany płodu [Nève, 1996; Rayman, 2000; Chariot, 2003]. Optymalna dzienna dawka Se dla człowieka wynosi od 50 do 200 µg, natomiast dawka 600-800 µg staje się toksyczna [Wachowicz, 1993]. Główne źródło selenu dla ludzi i zwierząt stanowi pożywienie.

Aktualnie selen nie jest uznawany za pierwiastek niezbędny dla prawidłowego wzrostu i rozwoju roślin. Jego związki są dość łatwo pobierane i gromadzone przez rośliny chociaż większość gatunków wykazuje niską tolerancję na ten pierwiastek, a jego akumulacja w tkankach wywołuje liczne zaburzenia metaboliczne [Terry i in., 2000]. W ostatnim czasie jednak coraz więcej prac wskazuje na korzystny wpływ małych ilości Se na rośliny [Hartikainen i Xue, 1999; Xue i in., 2001; Seppänen i in., 2003]. Z tego względu selen zaliczono do grupy pierwiastków pożądaných,

szczególne dla roślin akumulujących go w dużych ilościach, tzw. hiperakumulatorów selenu [Kopsell i Kopsell, 2007].

Selen w roślinach występuje głównie w postaci selenometioniny, ale również selenocysteiny, selenohomocysteiny, seleno-metylocysteiny, selenotlenku, dimetyloselenku oraz w formie związków nieorganicznych takich jak seleniany(IV) i (VI) [Smrkołj i Stibilj, 2004; Pappa i in., 2006]. Zawartość Se w większości roślin uprawnych jest mała i nie przekracza $1 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ s.m., istnieje jednak grupa roślin bogata w selen – gatunki z rodzaju targanek (*Astragalus*). Również rośliny z rodziny *Cruciferae* cechują się znacznie wyższą zawartością selenu niż np. sałata, pomidor czy truskawka [Wesołowski i Ulewicz, 2000; Mizutani i in., 1996; Ahmed, 2010]. To zróżnicowanie zawartości Se zależy nie tylko od gatunku rośliny, ale również od jego stężenia w glebie oraz formy chemicznej. Rośliny zielone chętniej pobierają selen w postaci selenianów(VI) niż (IV). Na biodostępność omawianego mikroelementu z gleby ma wpływ wiele czynników, takich jak: rodzaj gleby i jej pH, struktura gleby i jej stosunki wodne, warunki klimatyczne, potencjał oksydacyjno-redukcyjny, zawartość tlenków metali, węglanu wapnia, fosforu, siarki, cynku, kadmu, miedzi, manganu i wanadu (selen jest ich antagonistą) [Kos i in., 1998].

Rośliny najczęściej pobierają selen w postaci jonu Se(VI), który jest szybko transportowany poprzez naczynia drewna do jej pędów. Następnie w chloroplastach rozpoczyna się przyswajanie za pośrednictwem szlaku odpowiedzialnego za przemianę siarczanów. Tutaj następuje redukcja Se(VI) do Se(IV), a dalej redukcja do Se(II) przy udziale zredukowanego glutationu (GSH). W dalszym etapie szlaku biosyntezy metioniny, selenometionina zostaje przekształcona do dimetyloselenitu (DMSe), a potem przekształcona w związki lotne do (DMDSe). Dzięki pobieraniu i akumulacji tego mikroelementu i uwalnianiu go w postaci związków lotnych, rośliny mogą być wykorzystywane jako alternatywny sposób do usuwania nadmiaru tego pierwiastka z zanieczyszczonego środowiska [Karwacka i in., 2013].

Wzbogacanie roślin w selen, poprzez zastosowanie zabiegów agrotechnicznych, jest skuteczną metodą uzupełnienia deficytu selenu w diecie zwierząt i ludzi. Kluczowe w tym podejściu jest wykorzystanie odpowiedniego sposobu dostarczania selenu do rośliny przy równoczesnym zapewnieniu bezpieczeństwa jego stosowania i minimalizacji skażeń środowiska [FAO/WHO, 2000; SCF, 2000; CCME, 2009].

Introdukcja roślin wyższych tym mikroelementem przy pomocy zabiegów agrotechnicznych, opiera się głównie na wykorzystaniu nawozów mineralnych zawierających ten pierwiastek w postaci selenianu(VI) sodu (Na_2SeO_4) lub innych soli selenianu, a także jako saletry amonowo-wapniowej wzbogaconej w selen. W przypadku gleb, gdzie selen jest w deficycie, stosuje się nawozy glebowe lub dolistne. Nawozy dolistne stosowane są, gdy mamy do czynienia z roślinami, które

nie transportują bezpośrednio selenu do części jadalnych np. uprawy sadownicze. Należy pamiętać, że celem fortyfikacji jest właśnie zwiększenie zawartości selenu w częściach jadalnych roślin, który transportowany jest od korzenia lub liści w formie nietoksycznej [Darecki i in., 2015].

Agrotechniczna biofortyfikacja roślin w selen może w dużym stopniu przyczynić się do zmniejszenia niedoborów tego pierwiastka wśród ludności oraz zwierząt karmionych paszą z surowców wzbogacanych. Wzbogacając surowce roślinne w selen należy brać pod uwagę ich tolerancję wobec tego pierwiastka. Rośliny, które go nie akumulują pozostają w dużym stopniu wrażliwe na jego dużą zawartość w glebie [Darecki i in., 2015]. Sposób pobierania selenu z gleby zależy od jego formy znajdującej się w otoczeniu rośliny. Rośliny pobierając ten pierwiastek przekształcają go z postaci nieorganicznej do postaci organicznej. Jest to czynnik który powinien być brany pod uwagę przy biofortyfikacji [Terry i in., 2000]. Seppanen i in. [2010] podjęli skuteczne próby fortyfikacji roślin kapustowatych w selen w środowisku naturalnym. Wykazali oni wysoką akumulację selenu (ok. $2 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) w roślinie bez wpływu na wysokość plonu czy zawartość i jakość olejów z nich tłoczonych. Dodatkowo, 85% całkowitego selenu zawartego w fortyfikowanym rzepaku występowała w postaci selenometioniny, czyli związku pożądanego w perspektywie żywienia człowieka i zwierząt. O ile selen nie wpływał na ww. parametry to miał on wpływ na morfologię plonów za sprawą selenocukrów, których obecność potwierdzono w omawianym doświadczeniu polowym jak i w warunkach ściśle kontrolowanych [Lyons i in., 2009]. Również badania na ryżu fortyfikowanym w selen wykazały różnice w aktywności białek odpowiedzialnych za syntezę sacharozy w porównaniu do roślin nie wzbogacanych w ten pierwiastek [Wang i in., 2013].

W badaniach Feng i in. [2013] oraz Mechora i Ugrinović [2015] stwierdzono pozytywny wpływ selenu na odporność wielu gatunków roślin na stropy biotyczne jak i abiotyczne. Podwyższenie tolerancji roślin użytkowych na niekorzystne czynniki środowiska, będące efektem biofortyfikacji selenem, może przynieść znaczne korzyści ekonomiczne związane z wykorzystaniem obszarów na których produkcja roślinna z zastosowaniem tradycyjnej uprawy jest utrudniona. Możliwa jest także jednoczesna biofortyfikacja w jod i selen, co może przynieść korzystne rezultaty dla zawartości obu pierwiastków. Rakoczy i Smoleń [2013] wykazali, że jednoczesna dolistna biofortyfikacja w jod i selen spowodowała podniesienie poziomu wapnia, magnezu oraz sodu. Po zastosowaniu selenu w formie SeO_4^{2-} i jodu I wyraźnie zwiększył się poziom fosforu. Po zastosowaniu form SeO_3^{2-} i I ponad trzykrotnie wzrosła zawartość żelaza. Po podwójnej aplikacji jodu w formie KI oraz selenu w formie Na_2SeO_4 badane

rośliny wykazywały najwyższą zawartość fosforu, wapnia, magnezu, siarki oraz boru [Rakoczy i Smoleń, 2013].

Podsumowanie

Rośliny uprawne zawierające zwiększoną zawartość jodu i/lub selenu mogą stać się efektywnym i bezpiecznym dla ludzi i zwierząt źródłem wspomnianych pierwiastków w diecie. Mogą również być bardziej pożądane na rynku ponieważ koszty ich produkcji mogą być znacznie niższe w porównaniu z makroekonomicznymi nakładami przeznaczonymi na wdrażanie powszechnych programów profilaktyki mineralnej prowadzonymi innymi metodami czy też kosztami leczenia chorób wynikających z deficytu minerałów w diecie.

Literatura

1. Ahmed H.K. (2010). Differences between some plants in selenium accumulation from supplementation soils with selenium. *Agriculture and Biology Journal of North America*, 1(5), 1050-1056.
2. Bouis H.E., Welch R.M. (2010). Biofortification – a sustainable agricultural strategy for reducing micronutrient malnutrition in the global south. *Crop Science*, 50(1), 20-32.
3. CCME – Canadian Council of Ministers of the Environment. (2009). PN 1438, www.ccme.ca/assets/pdf/soqg_se_scd_1438.pdf. (dostęp on-line: 2014-05-20).
4. Chariot P., Bignani O. (2003). Skeletal muscle disorders associated with selenium deficiency in humans. *Muscle Nerve*, 27(6), 662-668.
5. Dai J.L., Zhu Y.G., Zhang M., Huang Y.Z. (2004). Selecting iodine-enriched vegetables and the residual effect of iodate application to soil. *Biological Trace Element Research*, 101(3), 265-276.
6. Darecki A., Saeid A., Górecki H. (2015). Selen w perspektywie fortyfikacji roślin o znaczeniu gospodarczym dla Polski. *Wiadomości Chemiczne*, 69, 1067-1081.
7. FAO/WHO (2000). Expert consultation on human vitamin and mineral requirements, Chapter 15: Selenium.
8. Feng R., Wei C., Tu S. (2013). The roles of selenium in protecting plants against abiotic stresses. *Environmental and Experimental Botany*, 87, 58-68.
9. Germ M., Stibilj V., Kreft I. (2007). Metabolic importance of selenium for plants. *European Journal of Plant Science and Biotechnology*, 1, 91-97.
10. Hartikainen H., Xue T. (1999). The promotive effect of selenium on plant growth as triggered by ultraviolet irradiation. *Journal of Environmental Quality*, 28, 1272-1275.
11. Karwacka A., Dullin P., Galbas M. (2013). Skutki niedoboru selenu u zwierząt. *Postępy biochemii*, 60(3), 365-370.
12. Kopsell D.A., Kopsell D.E. (2007). Selenium. w: *Handbook of plant nutrition* (Barker A.V., Pilbeam D.J.). CRC Press, Boca Raton, 515-549.
13. Kos V., Veber M., Hudnik V. (1998). Determination of selenium in soil by hydride generation AAS. *Fresenius Journal of Analytical Chemistry*, 360, 225-229.
14. Kyriakopoulos A., Behne D. (2002). Selenium containing Proteins in Mammals and Ither Forms of Life w: *Reviews of Physiology, Biochemistry and Pharmacology* 145, Springer 37.
15. Ledwożyw-Smoleń I., Smoleń S., Rożek S. (2011). Wpływ zróżnicowanych sposobów aplikacji KIO₃ na akumulację tego pierwiastka oraz jakość odżywczą sałaty uprawianej w systemie hydroponicznym. *Ochrona Środowiska i Zasobów Naturalnych*, 48, 22-30.
16. Lyons G., Genc Y., Soole K., Stangoulis J.C.R., Liu F., Graham R.D. (2009). Selenium increases seed production in Brassica. *Plant Soil*, 318, 73-80.
17. Mackowiak C.L., Grossl P.R., Cook K.L. (2005). Iodine toxicity in a plant-solution system with and without humic acid. *Plant Soil*, 269, 141-150.

18. Maines M., Kappas A. (1976). Selenium regulation of hepatic heme metabolism: induction of delta-aminolevulinatase synthase and heme oxygenase. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA.*, 3(12), 4428-4431.
19. Mechora Š., Ugrinović K. (2015). Can plant - herbivore interaction be affected by selenium? *Austin Journal of Environmental Toxicology*, 1(1), 5.
20. Mizutani T., Tanabe K., Watanabe K., Goto M. (1996). Selenium contents in Astragalus and uncultivated soils in Japan. *Journal of Toxicology and Environmental Health.*, 42, 360-366.
21. Nève J. (1996). Selenium as a Risk Factor for Cardiovascular Diseases. *Journal of Cardiovascular Risk*, 3(1), 42-47.
22. Pappa E.C., Pappas A.C., Surai P.F. (2006). Selenium content in selected foods from the Greek market and estimation of the daily intake. *Science of the Total Environment*, 372, 100-108.
23. Rakoczy R., Smoleń S. (2013). Skład mineralny sałaty siewnej w zależności od dolistnej aplikacji związków jodu i selenu – badania pilotażowe. *EPISTEME*, 20(1), 533-539.
24. Rayman M. (2000). The importance of selenium to human health. *Lancet*, 356, 233-241.
25. SCF (2000). Opinion of the Scientific Committee on Food on the Tolerable Upper Intake Level of Selenium, 1-18, www.ec.europa.eu/food/fs/sc/scf/out80g_en.pdf. (dostęp on line: 2014-05-20).
26. Seppanen M., Kontturi J., Heras I., Madrid Y., Camara C., Hartikainen H. (2010). Agronomic biofortification of Brassica with selenium—enrichment of SeMet and its identification in Brassica seeds and meal. *Plant and Soil*, 337 (1-2), 273-283.
27. Seppänen M., Turakainen M., Hartikainen H. (2003). Selenium effects on oxidative stress in potato. *Plant Science*, 165, 311-319.
28. Smoleń S. (2013). Agrotechniczne metody biofortyfikacji marchwi (*Daucus carota* L.) w jod – nowe perspektywy jodowania żywności. Rozprawa habilitacyjna. Wyd. Uniwersytetu Rolniczego w Krakowie. Zeszyty Naukowe Uniwersytetu Rolniczego im. H. Kołłątaja w Krakowie, 518.
29. Smoleń S., Sady W. (2011). Influence of iodine fertilization and soil application of sucrose on the effectiveness of iodine biofortification, yield, nitrogen metabolism and biological quality of spinach. *Acta Scientiarum Polonorum Hortorum Cultus*, 10(4), 51-63.
30. Smoleń S., Sady W. (2012). Influence of iodine form and application method on the effectiveness of iodine biofortification, nitrogen metabolism as well as the content of mineral nutrients and heavy metals in spinach plants (*Spinacia oleracea* L.). *Scientia Horticulturae*, 143, 176-183.
31. Smrkoľ P., Stibilj V. (2004). Determination of selenium in vegetables by hydride generation atomic fluorescence spectrometry. *Analytica Chimica Acta*, 512, 11-17.
32. Strzetelski P. (2005). Występowanie i przemieszczanie jodu w systemie gleba – roślina. *Postępy Nauk Rolniczych*, 6, 85-100.
33. Strzetelski P. (2011). Biofortyfikacja roślin w jod. *Panacea*, 2(35), 13-15.
34. Terry N., Zayed M., De Souza M.P., Tarun A.S. (2000). Selenium in higher plants. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 51, 401-432.
35. Wachowicz B. (1993). Selen w roślinach. *Wiadomości Botaniczne*, 37, 87-89.
36. Wang Y., Wang X., Ngai S., Wong Y. (2013). Comparative Proteomics Analysis of Selenium Responses in Selenium-Enriched Rice Grains. *Journal of Proteome Research* 12(2), 808-820.
37. Weng H., Hong C., Xia T., Bao L., Liu H., Li D. (2013). Iodine biofortification of vegetable plants - An innovative method for iodine supplementation. *Chinese Science Bulletin*, 58, 2066-2072.
38. Wesołowski M., Ulewicz B. (2000). Selen - pierwiastek śladowy niezbędny dla człowieka, występowanie, znaczenie biologiczne i toksyczność. *Farmacja Polska*, 56, 1004-1019.
39. White P.J., Broadley M.R. (2005). Biofortifying crops with essential mineral elements. *Trends in Plant Science*, 10(12), 586-593.
40. Wilber C. (1980). Toxicology of selenium: A review. *Clinical Toxicology*, 17, 171-320.
41. Xue T., Hartikainen H., Piironen V. (2001). Antioxidative and growth-promoting effect of selenium in senescing lettuce. *Plant Soil*, 237, 55-61.
42. Zagrodzki P. (2004). Selen a układ odpornościowy. *Postępy Higieny i Medycyny Doświadczalnej.*, 58, 140-149.

43. Ziemiański Ś., Bułhak-Jachymczyk B., Niedźwiecka-Kącik D., Panczewska-Kresowska B., Wartanowicz M. (2001). Normy Żywienia Człowieka. Warszawa, Państwowy Zakład Wydawnictw Lekarskich, Warszawa

JOANNA SOBOLEWSKA-ZIELIŃSKA¹, KORNELIA TWARDOWSKA¹,
MAŁGORZATA BĄCZKOWICZ², TERESA FORTUNA¹

¹*Katedra Analizy i Oceny Jakości Żywności, Wydział Technologii Żywności,
Uniwersytet Rolniczy w Krakowie*

²*Katedra Technologii Gastronomicznej i Konsumpcji, Wydział Technologii Żywności,
Uniwersytet Rolniczy w Krakowie*

STABILNOŚĆ WITAMINY C W SYROPACH Z KWIATU MNISZKA LEKARSKIGO (*TARAXACUM OFFICINALE*) W OKRESIE PRZECHOWYWANIA

Streszczenie

Celem pracy było określenie stabilności witaminy C w syropach z kwiatu mniszka lekarskiego w trakcie 6-cio miesięcznego przechowywania. Witamina C zawarta w próbkach pochodziła z surowca naturalnego (wyciągu z kwiatu), jak również stanowiła substancję dodatkową zastosowaną w ilości 0,15 i 0,20% masy syropu. Syropy po wytworzeniu podzielono na 2 części. Jedną rozlano do jasnych, a drugą do ciemnych butelek i szczelnie zamknięto. Kolejno połowę próbek w jasnych i ciemnych butelkach poddano pasteryzacji. W próbkach świeżo zapakowanych oraz po 1, 2, 3 i 6 miesiącu przechowywania w temperaturze otoczenia (ok. 23°C) zbadano kwasowość aktywną, zawartość witaminy C stosując metodę chromatograficzną oraz przeprowadzono analizy mikrobiologiczne. Stwierdzono, że proces pasteryzacji spowodował obniżenie zawartości kwasu L-askorbinowego w syropie, jednak był niezbędny, aby utrzymać jego czystość mikrobiologiczną. Po sześciu miesiącach, niezależnie od warunków przechowywania i początkowej ilości dodanej witaminy odnotowano spadek jej zawartości, natomiast zaobserwowano wzrost kwasowości aktywnej.

Wstęp

Badania epidemiologiczne wskazują, że surowce roślinne powodują zmniejszenie częstotliwości występowania niektórych chorób, takich jak choroby układu krążenia, neurologiczne, czy nowotworowe. Przypisuje się to m. in. związkom przeciwutleniającym obecnym w tych produktach. W ostatnich latach widoczny jest wzrost zainteresowania konsumentów żywnością bogatą w składniki prozdrowotne. W grupie takich produktów są syropy owocowo-ziołowe dodatkowo fortyfikowane witaminą C.

Witamina C jest witaminą o wielokierunkowym działaniu na organizm człowieka ze względu na swoją wysoką aktywność biologiczną [Gausso-García Sancho i in., 2011;

Valente i in., 2011]. Pełni ona ochronną rolę w chorobie wieńcowej serca i chorobach sercowo-naczyniowych. Dzięki zdolnościom antyoksydacyjnym kwas askorbinowy chroni komórki organizmu przed stresem oksydacyjnym, „wymiatą” wolne rodniki, zmniejszając ilość uszkodzeń na poziomie DNA, jak również uszkodzeń białek i lipidów, obniżając tym samym ryzyko rozwoju nowotworów, zwłaszcza żołądka i przełyku. Witamina C jest niezbędna do prawidłowego przebiegu wielu procesów biologicznych. Jest kofaktorem w procesie biosyntezy kolagenu, hormonów steroidowych, adrenaliny i wielu innych związków, a także ma wpływ na wchłanianie w przewodzie pokarmowym żelaza i wapnia [Włodek, 2004; Maćkowiak i Torliński, 2007; Janda i in., 2015].

Witamina C jest jedną z najmniej stabilnych witamin, ze względu na swoją dużą wrażliwość na działanie tlenu, promieniowanie ultrafioletowe, podwyższoną temperaturę, czy obecność jonów metali ciężkich. Warunki przechowywania surowców, również procesy przetwórcze, jak i sposób magazynowania oraz dystrybucji produktów wpływają na zmniejszenie zawartości tej witaminy [Rytel i Lisińska, 2007; Mazurek i Jamroz, 2010; Janda, 2015]. W związku ze stratami technologicznymi i przechowalniczymi kwasu L-askorbinowego w żywności, stosuje się fortyfikację. Produkty spożywcze suplementowane witaminami, czy składnikami mineralnymi pozwalają uzupełnić brakującą ich ilość do zalecanego poziomu ich spożycia, a co za tym idzie wpływają pozytywnie na zdrowie.

W przemyśle spożywczym kwas L-askorbinowy jest stosowany jako dozwolony dodatek do żywności i pełni funkcje technologiczną jako regulator kwasowości. Jednym z celów dodawania kwasów spożywczych do żywności jest uniemożliwienie rozwoju drobnoustrojów poprzez obniżenie pH i zahamowanie działania enzymów [Górska i Pietkiewicz, 2009].

Celem pracy było określenie stabilności witaminy C w syropach z kwiatu mniszka lekarskiego poddanych procesowi pasteryzacji i bez tego zabiegu w czasie 6-cio miesięcznego przechowywania w temperaturze pokojowej $23\pm 1^{\circ}\text{C}$ w różnych warunkach świetlnych (w butelkach ciemnych i jasnych).

Materiał i metodyka

Materiał badawczy stanowiły próby laboratoryjne syropu z mniszka lekarskiego z dodatkiem witaminy C w dwóch różnych stężeniach.

W skład syropu, oprócz wody i sacharozy wchodziły: wyciąg z kwiatów mniszka lekarskiego (10%), naturalny aromat pomarańczowy (0,05%), kwas L-askorbinowy (0,15 lub 0,2%).

Bezpośrednio po sporządzeniu syropy rozlewano do szklanych butelek o pojemności 100 cm^3 i szczelnie zamykano zakrętką. Wykorzystano butelki o jasnym

i ciemnym zabarwieniu szkła. Ponadto połowę próbek, w butelkach jasnych i ciemnych, poddano pasteryzacji, a połowa była przechowywana bez tego procesu.

Zastosowano następujący sposób znakowania badanych prób syropów:

A - z dodatkiem witaminy C w ilości 0,15 g/100 g produktu;

B - z dodatkiem witaminy C w ilości 0,20 g/100 g produktu;

P - poddany pasteryzacji;

N - bez procesu pasteryzacji;

J - przechowywany w jasnej butelce;

C - przechowywany w ciemnej butelce.

Syropy przechowywano przez 6 miesięcy w temperaturze pokojowej $23\pm 1^{\circ}\text{C}$ (kontrolując ją dwa razy dziennie). Bezpośrednio po wyprodukowaniu, a następnie po 30, 60, 90 dniach oraz na koniec procesu przechowalniczego po szóstym miesiącu wykonano następujące analizy: pomiar kwasowości aktywnej (pH), oznaczenie zawartości kwasu L-askorbinowego przy użyciu HPLC oraz analizy mikrobiologiczne (oznaczenie ogólnej liczby bakterii oraz liczby drożdży i pleśni).

Kwasowość aktywną mierzono za pomocą pH-metru firmy WTW w temperaturze pokojowej, kalibrując elektrodę przed każdą serią pomiarów stosując bufor o pH=4 (firmy Mettler Toledo).

Analizę chromatograficzną przeprowadzono przy użyciu aparatu HPLC firmy Merck w odwróconym układzie faz stosując jako eluent mieszaninę 20:80 metanolu i buforu fosforanowego o pH=3. Szybkość przepływu fazy ruchomej ustalono na 1 ml/min. Rozdział chromatograficzny następował w temperaturze 40°C . Natomiast zastosowany w tej metodzie detektor UV-ViS pracował przy długości fali 240 nm.

Analizy mikrobiologiczne wykonano metodą płytek lanych, według norm zakładowych firmy produkującej syropy ziołowo-owocowe. Sporządzono trzy rozcieńczenia dla każdej próby (10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3}). Po pobraniu odpowiedniej ilości badanej próbki syropu przenoszono ją do probówki zawierającej sól fizjologiczną uzyskując odpowiednie rozcieńczenia i dokładnie wymieszano. Do oznaczenia ogólnej liczby drobnoustrojów przygotowano jałowe płytki Petriego dla każdego rozcieńczenia osobno. Na płytkę nanoszono 1cm^3 odpowiednio rozcieńczonej próbki i zalewano $15\text{-}20\text{ cm}^3$ upłynnionego podłoża agarowego TSA (firmy Merck). Płytki inkubowano w cieplarni przez 72 godziny w temperaturze 30°C . Po zakończeniu inkubacji wyjęto płytki z cieplarki. Stosując licznik kolonii policzono liczbę kolonii drobnoustrojów tlenowych (TAMC) odpowiadającą każdemu rozcieńczeniu. Następnie obliczono średnią arytmetyczną wyników dla każdego rozcieńczenia oraz

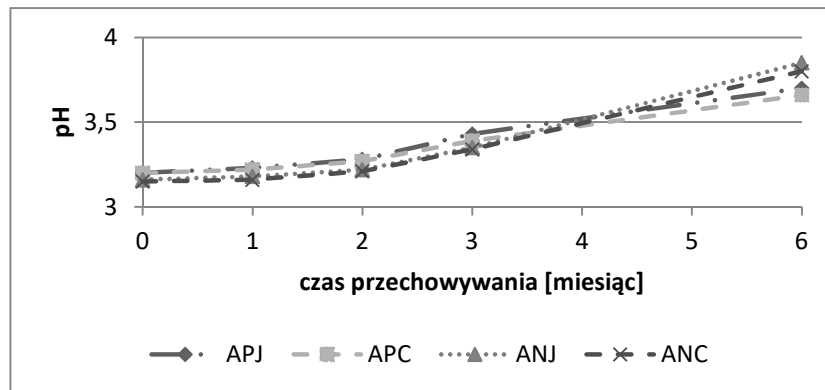
przeliczono wynik na liczbę jednostek tworzących kolonię (jtk) w mililitrze, uwzględniając użyte rozcieńczenia. Do wyznaczenia ogólnej liczby pleśni i drożdży postępowano analogicznie jak powyżej, stosując upłynnione podłoże agarowe Sabouraud z glukozą i chloramfenikolem (firmy Merck). Inkubowano próbki przez 120 godzin w temperaturze 22°C. Po zakończeniu inkubacji wyjęto płytki z ciepłarki. Przy użyciu licznika kolonii policzono na płytkach liczbę pleśni i drożdży (TYMC). Następnie obliczono średnią arytmetyczną wyników dla każdego rozcieńczenia oraz przeliczono wynik na liczbę pleśni i drożdży w mililitrze.

Wyniki analiz opracowane zostały metodami statystycznymi wykorzystując program Microsoft Office Excel 2007. Wyznaczono najmniejsze istotne różnice pomiędzy próbkami (NIR) na poziomie istotności $\alpha=0,05$ oraz policzono współczynniki korelacji.

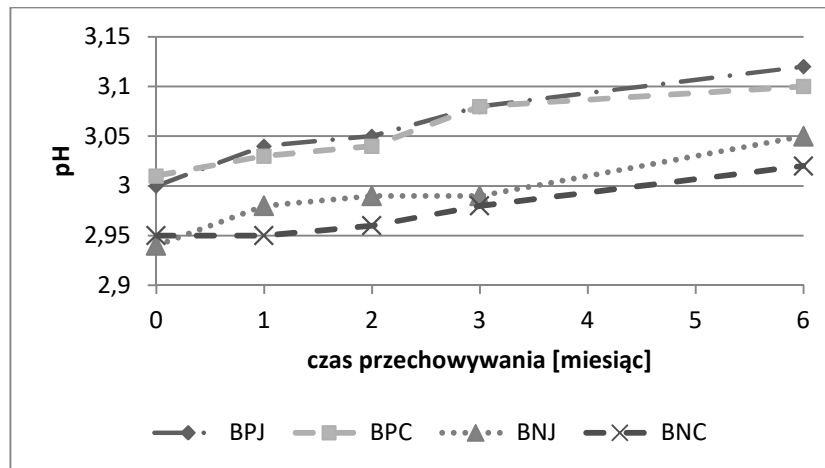
Wyniki i dyskusja

Kwas L-askorbionowy często jest dodawany do produktów spożywczych ze względu na to, że jest regulatorem kwasowości [Rozp. Min. Zdr., 2010]. Uzyskane wartości pomiarów pH badanych syropów z kwiatu mniszka pozwoliły zaobserwować trend wzrostowy w czasie przechowywania dla obu wariantów syropów (z mniejszym – A i większym – B dodatkiem witaminy C), szczególnie po drugim miesiącu przechowywania. Początkowa wartości pH dla syropów wersji B była niższa w porównaniu z syropami z mniejszym dodatkiem witaminy C, co wynikało z większej dawki dodanego kwasu. Wartość pH syropów B do końca okresu przechowywania nie osiągnęła wyjściowego poziomu wartości pH dla syropów A. Zauważono niewielki, ale istotny statystycznie, wzrost wartości pH w trakcie 6-cio miesięcznego przechowywania dla syropów z mniejszym dodatkiem witaminy C (seria A). Wyższą kwasowość aktywną stwierdzono w przypadku syropów A niepoddanych procesowi pasteryzacji. Natomiast porównując warunki świetlne, syrop A przechowywany w butelce z jasnego szkła (z dostępem światła) wykazuje większy wzrost pH. Na podstawie analizy statystycznej stwierdzono występowanie istotnych różnic dla badanych syropów pomiędzy wartościami pH mierzonymi w całym okresie przechowywania.

Na rysunku 1 przedstawiono średnią wartość pH badanych syropów w trakcie przechowywania.



A



B

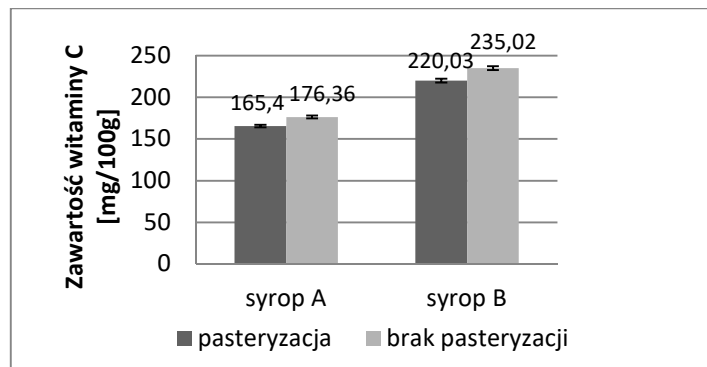
Rysunek 1. Średnia wartość pH badanych syropów w trakcie przechowywania
 A – syrop z dodatkiem witaminy C 0,15 g/100 g; B – syrop z dodatkiem witaminy C 0,2 g/100 g

Soki owocowe i warzywne są na ogół konserwowane przez obróbkę cieplną, która jest obecnie najskuteczniejszym sposobem zapewnienia bezpieczeństwa mikrobiologicznego. Jednak obróbka termiczna może wywoływać chemiczne i fizyczne zmiany, które mają wpływ na właściwości organoleptyczne, jak również mogą zmniejszać zawartość lub biodostępność niektórych składników odżywczych, w tym witaminy C [Petrucci i in., 2017]. Proces pasteryzacji jako termiczny sposób utrwalania żywności miał istotny wpływ na zawartość kwasu askorbinowego w gotowych syropach. Jego skutkiem było zniszczenie lub zahamowanie rozwoju drobnoustrojów chorobotwórczych oraz enzymów. Celem producentów jest wytworzenie takiego produktu, który zachowuje swoje wartości odżywcze i walory

sensoryczne, ale jednocześnie jest czysty mikrobiologicznie i bezpieczny dla konsumenta pod względem zdrowotnym. Zastosowanie procesu pasteryzacji powoduje niestety straty witamin wrażliwych na wyższe temperatury, co potwierdzają wyniki badań naukowych [Han i in., 2004; Cieślewicz i Grzelakowska, 2012]. Jak podają Kapusta-Duch i wsp. [2015] i Różańska i in. [2013] procesy technologiczne wykorzystujące podwyższoną temperaturę, nawet takie jak blanszowanie, czy gotowanie skutkują spadkiem zawartości witaminy C w produkcie. W badaniach Rytel i Lisińskiej [2007] stwierdzono, że nawet wstępne przygotowanie ziemniaka bogatego w witaminę C do obróbki termicznej, czyli jego krojenie i stopień rozdrobnienia także powodowały straty labilnej witaminy.

W próbkach z obydwooma dawkami witaminy C (A i B), zarówno syropy pasteryzowane, jak i niepasteryzowane różniły się istotnie zawartością witaminy C. Bezpośrednio po produkcji zaobserwowano 6% spadek zawartości tego składnika we w pasteryzowanych syropach.

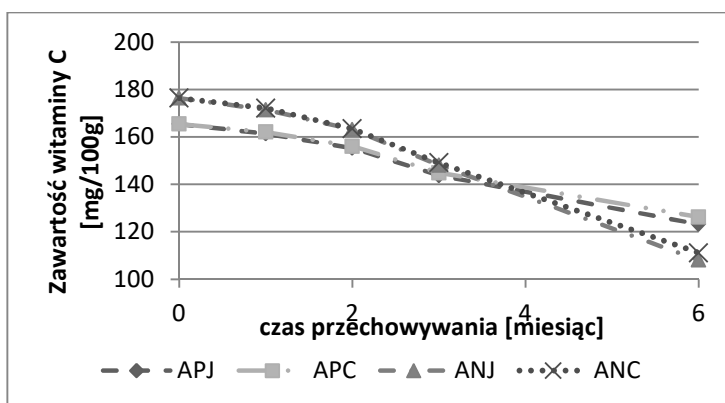
Na wykresie 2 przedstawiono średnią zawartość witaminy C w syropach pasteryzowanych i niepasteryzowanych zaraz po ich wyprodukowaniu.



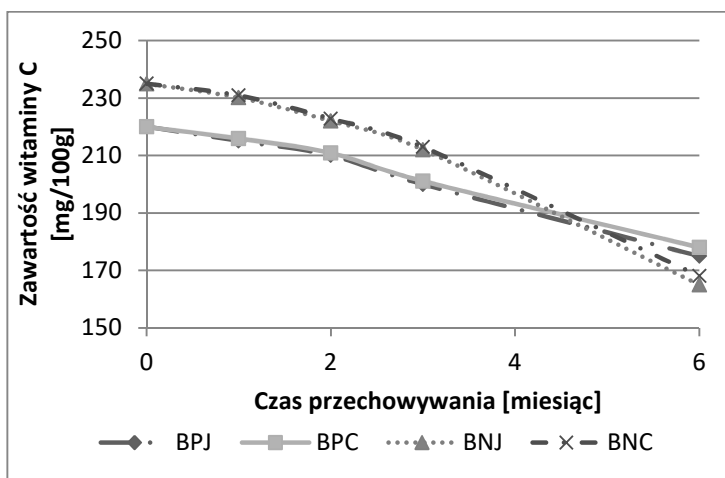
Rysunek 2. Średnia zawartość witaminy C w syropach pasteryzowanych i niepasteryzowanych bezpośrednio po wyprodukowaniu.

W trakcie półrocznego przechowywania badanych syropów z mniszka lekarskiego zaobserwowano tendencję obniżania zawartości witaminy C. Po pierwszym miesiącu przechowywania straty zawartości kwasu L-askorbinowego w syropach A i B były niewielkie (ok. 1,7-2,7%). W badaniach Mazurek i Jamroz [2010] dotyczących stabilności witaminy C w sokach grejpfrutowym, pomarańczowym i nektarze z czarnej porzeczki stwierdzono, że najmniejszą odporność na przechowywanie wykazała witamina C w nektarze porzeczkowym odnotowano aż 61,34% spadek jej zawartości po 48 godzinach przechowywania w temperaturze pokojowej. Straty

witaminy C w sokach pomarańczowym i grejpfrutowym były znacznie mniejsze i wynosiły od 5,99% do 11,87%.



A



B

Rysunek 3. Średnia zawartość witaminy C w syropach w trakcie przechowywania

A – syrop z 0,15 g/100 g dodatkiem witaminy C; B – syrop z 0,2 g/100 g dodatkiem witaminy C

Uzyskane wyniki badań własnych, kilkoprocentowe zmniejszenie zawartości witaminy C, czyli jej stabilność w badanych syropach z mniszka lekarskiego może wynikać z obecności innych substancji o właściwościach antyoksydacyjnych występujących w dodanym ekstrakcie z kwiatów. Stabilność układu obserwowana jest w pierwszych 2-dwóch miesiącach. Wraz z upływem czasu następowała coraz

większa strata tego składnika. Znaczący (ponad 20%) spadek zawartości witaminy C był zauważalny między 3 a 6 miesiącem przechowywania. Jak podają źródła naukowe, czas przechowywania jest jednym z najważniejszych czynników wpływających na spadek zawartości witaminy C w surowcach oraz żywności przetworzonej [Wierzbicka i Kuskowska, 2002; Czech i Rusinek, 2012]. Biorąc natomiast pod uwagę syropy niepasteryzowane i poddane temu procesowi po bezpośrednim spadku zawartości witaminy C (~6%) w produkcie stwierdzono korzystny wpływ termicznego utrwalania próbek na stabilność witaminy C w syropach. Straty witaminy C w próbkach, w których zastosowano pasteryzację były ok. 10% mniejsze niż w analogicznych próbkach niepasteryzowanych. Analizując natomiast wpływ dostępu światła na zawartość witaminy C w syropach w tym samym czasie przechowywanych w butelkach ciemnych i jasnych niewiele większą jej zawartość, ale statystycznie istotną, odnotowano w tych pierwszych.

Zawartość witaminy C w każdej z próbek była wysoce ujemnie skorelowana z wartością pH badanego syropu ($r = -0,997$ dla syropu APJ do $r = -0,899$ dla próbki BNJ). Podobną zależność pomiędzy pH i zawartością witaminy C stwierdzili również Ajibola i in. [2009] badając wpływ przechowywania przez 4 tygodnie soków z owoców tropikalnych na zawartość witaminy C. Zauważyli przy tym, że chociaż wpływ pH na zawartość witaminy C jest istotny, nie jest to jedyny czynnik wpływający na jej stabilność.

Analizując uzyskane wyniki badań mikrobiologicznych badanych syropów z kwiatu mniszka lekarskiego można zauważyć, że stwierdzono wysoką ujemną korelację pomiędzy zawartością witaminy C a ogólną liczbą drobnoustrojów (od $r = -0,982$ dla BNC do $r = -0,947$ dla ANJ).

Tabela 1. Ogólna liczba drobnoustrojów w syropach z kwiatu mniszka podczas przechowywania

Próbka syropu	Ogólna liczba drobnoustrojów [jtk/ml]				
	0 miesiąc	1 miesiąc	2 miesiąc	3 miesiąc	6 miesiąc
APJ	<10	<10	<10	<10	<10
APC	<10	<10	<10	<10	<10
ANJ	<10	<10	$8,0 \cdot 10^1$	$3,0 \cdot 10^3$	$3,2 \cdot 10^4$
ANC	<10	<10	$6,0 \cdot 10^1$	$2,0 \cdot 10^3$	$3,0 \cdot 10^4$
BPJ	<10	<10	<10	<10	<10
BPC	<10	<10	<10	<10	<10
BNJ	<10	<10	$5,0 \cdot 10^1$	$2,0 \cdot 10^3$	$2,5 \cdot 10^4$
BNC	<10	<10	$3,0 \cdot 10^1$	$2,0 \cdot 10^3$	$2,2 \cdot 10^4$

Tabela 2. Ogólna liczba drożdży i pleśni w syropach z kwiatu mnieszka podczas przechowywania

Próbka syropu	Liczba drożdży i pleśni [jtk/ml]				
	0 miesiąc	1 miesiąc	2 miesiąc	3 miesiąc	6 miesiąc
APJ	<10	<10	<10	<10	<10
APC	<10	<10	<10	<10	<10
ANJ	<10	<10	$2,0 \cdot 10^1$	$1,9 \cdot 10^2$	$2,3 \cdot 10^3$
ANC	<10	<10	$2,0 \cdot 10^1$	$1,4 \cdot 10^2$	$2,0 \cdot 10^3$
BPJ	<10	<10	<10	<10	<10
BPC	<10	<10	<10	<10	<10
BNJ	<10	<10	$3,0 \cdot 10^1$	$1,7 \cdot 10^2$	$2,5 \cdot 10^3$
BNC	<10	<10	$2,0 \cdot 10^1$	$1,6 \cdot 10^2$	$2,2 \cdot 10^3$

Kwas askorbinowy dodany jako substancja utrwalająca okazał się niewystarczający aby zahamować rozwój drobnoustrojów w trakcie przechowywania próbek (tabela 1 i 2). Witamina C wykazuje strukturalne podobieństwo do cukrów heksozowych, dlatego możliwe jest, że stanowi źródło węgla do oddychania lub wzrostu bakterii [Ajibola i in., 2009]. Ponieważ wzrost drobnoustrojów jest możliwy tylko w określonych warunkach środowiskowych, mikroorganizmy odznaczają się dużymi zdolnościami przystosowawczymi swojego metabolizmu do warunków środowiska ich bytowania. Żywność uzupełnia zapotrzebowanie pokarmowe drobnoustrojów (stanowi źródło węgla, azotu, wody i związków mineralnych), dzięki czemu ich wzrost w czasie przechowywania ma zazwyczaj charakter dynamiczny [Sitarz i Janczar-Smuga, 2012]. W badanych próbkach wszystkich syropów zaraz po wyprodukowaniu oraz po pierwszym miesiącu przechowywania nie stwierdzono obecności drobnoustrojów oraz drożdży i pleśni. W przypadku prób niepasteryzowanych syropów A i B w drugim miesiącu przechowywania zauważalne były zmiany mikrobiologiczne (tabela 1 i 2). W kolejnych okresach przechowalniczych zaobserwowano wzrost ogólnej liczby drobnoustrojów oraz drożdży i pleśni, przy czym wzrost liczby mikroorganizmów nie nastąpił w próbkach pasteryzowanych. Według Kaddumukasa i in. [2017] higienicznie przetworzony niepasteryzowany sok przechowywany w temperaturach otoczenia (24°C) i chłodniczych (4°C) może pozostać bezpieczny do spożycia tylko przez około 48 godzin po wyprodukowaniu, ponieważ mikroorganizmy mogą być wprowadzone w trakcie przygotowywania surowca (obieranie, krojenie, rozdrabnianie). Efektywnie przeprowadzony proces pasteryzacji pozwala przedłużyć okres przydatności do spożycia, co zauważyli również autorzy badający przemiany zachodzące m. in.

w sokach pomarańczowych [Nienaber i Shellhammer, 2001; Polydera i in., 2003]. Porównując próbki syropów przechowywane w jasnych i ciemnych butelkach, niewiele niższą ogólną liczbę drobnoustrojów oraz drożdży i pleśni odnotowano w próbkach przechowywanych bez dostępu światła.

Wnioski

1. Etap pasteryzacji miał istotny wpływ na zawartość witaminy C w gotowym produkcie. Proces ten spowodował ok. 6% spadek zawartości tej witaminy w badanych syropach z kwiatu mniszka lekarskiego, jednak w czasie przechowywania wpływał dodatnio na stabilność witaminy C w próbkach.
2. Istnieje ujemna wysoka korelacja pomiędzy zawartością witaminy C w badanych syropach, a kwasowością aktywną próbek.
3. Czas przechowywania miał istotny wpływ na obniżenie zawartość kwasu L-askorbinowego, niezależnie od ilości dodanej witaminy C do wyjściowego produktu spadek jej zawartości był proporcjonalny.
4. Większą zawartością witaminy C charakteryzowały się próbki przechowywane w ciemnych butelkach, różnice były jednak niewielkie.
5. Kwas askorbinowy dodany do syropu, zarówno w dawce 0,15 i 0,20 g/100g, nie był w stanie zabezpieczyć produktu przed rozwojem drobnoustrojów. W celu prewencji mikrobiologicznej skuteczne było przeprowadzenie procesu pasteryzacji.

Literatura

1. Ajibola V.O., Babatunde O.A. Suleiman S. (2009). The effect of storage method on the vitamin C content in some tropical fruit juices, *Trends in Applied Sciences Research*, 4(2), 79-84.
2. Cieślewicz J., Grzelakowska A. (2012). Wpływ warunków przechowywania na zawartość witaminy C i karotenoidów w papryce żółtej. *Bromatologia i Chemia Toksykologiczna*, 4, 1246-1253.
3. Czech A., Rusinek E. (2012). Zawartość związków przeciwutleniających w wybranych warzywach kapustnych. *Bromatologia i Chemia Toksykologiczna*, 45(1), 59-65.
4. Gauosso-García Sancho L.E., Yahia E.M., González-Aguilar G.A. (2011). Identification and quantification of phenols, carotenoids, and vitamin C from papaya (*Carica papaya* L., cv. Maradol) fruit determination by HPLC-DAD-MS/MS-ESI. *Food Research International*, 44(5), 1284-1291.
5. Górka K., Pietkiewicz J. (2009). Funkcje technologiczne i charakterystyka kwasów dodawanych do żywności. *Nauki Inżynierskie i Technologie*, 1, 141-159.
6. Han J.S., Kozukue N., Young K.S., Lee K.R., Friedman M. (2004). Distribution of ascorbic acid in potato tubers and home-processed and commercial potato foods. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(21), 6516-6521.
7. Janda K., Kasprzak M., Wolska J. (2015). Witamina C – budowa, właściwości, funkcje i występowanie. *Pomeranian Journal of life Sciences*, 61(4), 419-425.
8. Kapusta-Duch J., Leszczyńska T., Borczak B., Biezanowska-Kopeć R. (2015). Wpływ wybranych procesów technologicznych na zmiany zawartości witaminy C w kalafiorze zielonym Romanesco. *Bromatologia i Chemia Toksykologiczna*, 3, 344-349.
9. Kaddumukasa P.P., Imathiu S.M., Mathara J.M. (2017). Influence of physicochemical parameters on storage stability: Microbiological quality of fresh unpasteurized fruit juices. *Food Science & Nutrition*, 5, 1098-1105.

10. Maćkowiak K., Torliński L. (2007). Współczesne poglądy na rolę witaminy C w fizjologii i patologii człowieka. *Nowiny Lekarskie*, 76, 4, 349-356.
11. Mazurek A., Jamroz J. (2010). Stabilność witaminy C w sokach owocowych i nektarze z czarnej porzeczki podczas przechowywania. *Acta Agrophysica*, 16(1), 93-100.
12. Nienaber U., Shellhammer T.H. (2001). High-pressure processing of orange juice combination treatments and a shelf life study. *Journal of Food Science*, 66(2), 332-336.
13. Petruzzi L., Campaniello D., Speranza B., Corbo M.R., Sinigaglia M., Bevilacqua A. (2017). Thermal treatments for fruit and vegetable juices and beverages: a literature overview. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* [https://doi:10.1111/1541-4337.12270](https://doi.org/10.1111/1541-4337.12270).
14. Polydera A.C., Stoforos N.G., Taoukis P.S. (2003). Comparative shelf life study and vitamin C loss kinetics in pasteurized and high pressure processed reconstituted orange juice. *Journal of Food Engineering*, 60, 21-29.
15. Rozp. Min. Zdr. (2010). Rozporządzenie Ministra Zdrowia z dnia 22 listopada 2010 w sprawie dozwolonych substancji dodatkowych. Dz. U. nr 232 poz. 1525.
16. Różańska D., Regulska-Iłow B., Iłow R. (2013). Wpływ procesów kulinarnych na zawartość wybranych witamin w żywności. cz. I. witamina C i foliany. *Bromatologia i Chemia Toksykologiczna*, 3, 241-9.
17. Rytel E., Lisińska G. (2007). Zmiany zawartości witaminy C w bulwach ziemniaka podczas gotowania i przetwarzania na produkty smażone i suszone. *Żywność, Nauka, Technologia, Jakość*, 6(55), 186-197.
18. Sitarz S., Janczar-Smuga M. (2012). Współczesne zagrożenia bezpieczeństwa żywności, możliwości ich kontroli oraz eliminacji. *Nauki Inżynierskie i Technologie*, 2(5), 68-94.
19. Wierzbicka B., Kuskowska M. (2002). Wpływ wybranych czynników na zawartość witaminy C w warzywach. *Hortorum Cultus*, 1(2), 49-57.
20. Włodek L. (2004). Reaktywne formy tlenu (RFT) w warunkach fizjologicznych i patologicznych, komórkowe systemy antyoksydacyjne. *Farmakologia Polska*, 60(9), 404-419.
21. Valente A., Albuquerque T.G., Sanches-Silva A., Costa H.S. (2011). Ascorbic acid content in exotic fruit: A contribution to produce quality data for food composition databases. *Food Research International*, 44(7), 2237-2242.

PAULINA ZEGARTOWSKA¹, ANNA KORUS¹,
RADOSŁAWA SKOCZEŃ-SŁUPSKA¹

¹*Katedra Technologii Owoców, Warzyw i Grzybów, Wydział Technologii Żywności,
Uniwersytet Rolniczy im. Hugona Kołłątaja w Krakowie*

WARTOŚĆ ODŻYWCZA I PROZDROWOTNA WYTŁOKÓW Z OWOCÓW I WARZYW

Streszczenie

Wytłoki, stanowiące masę odpadową, do niedawna były surowcem niedocenianym. Liczne badania wykazały, możliwość ich wykorzystania jako materiału wtórnego np. do wzbogacania żywności. Niepodważalną zaletą jest to, że są one tanim oraz powszechnie dostępnym surowcem. Znalazły również zastosowanie jako pasza w żywieniu zwierząt, co wynika z dużej zawartości takich składników jak: kwasy organiczne, związki bezazotowe, cukry, substancje tłuszczowe oraz witaminy. W przedstawionej pracy materiał analityczny stanowiły świeże wytłoki z owoców: aronii, jabłek, czarnej porzeczki oraz z warzyw: buraków i marchwi. W wytłokach oznaczono poziom popiołu, składników mineralnych oraz aktywność przeciwutleniającą. Najwyższą zawartość popiołu stwierdzono w wytłokach z buraków tj. 0,582 g/100 g świeżej masy, najniższą w wytłokach z aronii (0,270 g/100 g). Najwyższą aktywność przeciwutleniającą wobec DPPH odnotowano w wytłokach z aronii (51,3 $\mu\text{mol Troloxu}/1 \text{ g}$ produktu świeżej masy), a najniższą cechowały się wytłoki z buraków (18,0 $\mu\text{mol Troloxu}/1 \text{ g}$). Najwyższą zdolność wygaszania wolnego rodnika ABTS wykazano w wytłokach z jabłek (56 $\mu\text{mol Troloxu}/1 \text{ g}$ produktu), najniższą wartość osiągały wytłoki z czarnej porzeczki (28 $\mu\text{mol Troloxu}/1 \text{ g}$ produktu).

Słowa kluczowe: wytłoki, owoce, warzywa

Wstęp

Naturalne przeciwutleniacze wzbudzają zainteresowanie zarówno wśród konsumentów, ale także technologów żywności oraz towaroznawców. Można przypuszczać, iż jest to wynik ograniczonego zaufania konsumentów do syntetycznych dodatków do żywności. Dodatkowo, należy zwrócić uwagę na fakt, że naturalne antyoksydanty dodawane do żywności nie są regulowane przez prawo [Antosik, 2017]. Badania przeprowadzone w ostatnich latach pozwoliły na stwierdzenie, że naturalne przeciwutleniacze, których źródłem są przede wszystkim owoce, warzywa czy zioła odgrywają istotną rolę w profilaktyce i leczeniu wielu chorób, w tym najczęściej chorób dietozależnych, takich jak: cukrzyca, miażdżyca, choroby sercowo-naczyniowe, dyslipidemia i nowotwory [Middleton i in., 2000, Temple, 2000]. Wytłoki owocowe są

otrzymywane głównie z takich owoców jak: czarna porzeczka, aronia, wiśnie, maliny, truskawki, żurawina, czarna jagoda czy winogrona [Oszmiański, 2002; Zawirska, 2007].

Dotychczasowe badania wykazały, możliwość wykorzystania wycieków owocowych oraz warzywnych przez technologów żywności jako materiału wtórnego np. do wzbogacania żywności. Niepodważalną zaletą jest to, że są one tanim oraz powszechnie dostępnym materiałem do przetwarzania [Świątkiewicz, 2003; Kosmala i in., 2015]. Wycieki są także źródłem kwasów organicznych, związków bezazotowych, cukrów, substancji tłuszczowych oraz witamin. Badania przeprowadzone w ostatnich latach wykazały, że wycieki stanowią dobre źródło związków azotowych i węgla. Efektem ich zastosowania, np. w żywieniu zwierząt, jest zmniejszenie kosztów żywienia oraz dostarczenie w paszy niezbędnych składników mineralnych. Wycieki służą także do beztlenowego przetwarzania. W efekcie proces ten skutkuje wytworzeniem dodatkowej energii występującej w postaci biogazu. Biomasa wyciekowa znalazła zastosowanie w produkcji energii w odpowiedzi na zapotrzebowanie na odnawialne źródła energii (OZE) [Borycka, 2004]. Wykorzystanie wycieków do tych celów wiązało się ze znaczącym obniżeniem emisji gazów cieplarnianych, tj. dwutlenku węgla i równocześnie toksycznych składników spalin – dwutlenku siarki, tlenków azotu i tlenku węgla, w porównaniu z paliwem konwencjonalnym [Borycka, 2007].

Wycieki warzywne oraz owocowe są również wykorzystywane do pozyskiwania cennych związków fenolowych oraz jako dodatek do niektórych artykułów spożywczych. Możliwość stosowania ich na różnych etapach produkcji lub w trakcie przygotowywania posiłków jest dużą zaletą, co wynika z faktu, że zdecydowanie większa ilość przetworzonych artykułów spożywczych na rynku jest pozbawiona związków fenolowych. Stosowanie takich dodatków może być uzupełnieniem codziennej diety.

Żywnościowym atutem pozostałości owocowych oraz warzywnych jest wysoka w nich zawartość błonnika pokarmowego [Nawirska, 2007]. Jest on ważnym składnikiem diety człowieka. Zdolność do ulegania procesom fermentacji, wiązanie wody, wiązanie kwasów żółciowych, zdolności reagowania z jonami metali, czy zwiększanie masy stolca, to tylko kilka z udowodnionych zalet spożycia odpowiedniej ilości błonnika pokarmowego. Odgrywa on znaczącą rolę w zapobieganiu nie tylko cukrzycy, między innymi poprzez zmniejszenie hipoglikemii poposiłkowej, ale także otyłości, miażdżycy, chorób serca i niektórych nowotworów przewodu pokarmowego np. dieta wysokobłonnikowa (<40 g/dzień) spowodowała obniżenie zachorowania na raka jelita grubego aż o 35% [Murphy i in., 2012].

Znaczenie i zastosowanie wytlóków w żywności

Wytlóki z owoców oraz warzyw mogą pełnić rolę sorbentów metali ciężkich i przyczynić się do poprawy zdrowotności żywności. Zostało podjętych wiele prób wykorzystania w żywności wytlóków, przykładem mogą być ciastka z wytlókami pozyskanymi z malin z dodatkiem prażonej łuski gryczanej [Górecka, 2011]. Wykazano, że ciastka charakteryzowały się znacznie wyższym poziomem błonnika pokarmowego ogółem (6,65-16,45 g/100 g), w porównaniu do próby kontrolnej, którą stanowiły ciastka bez dodatku wytlóków (2,90 g/100 g). Ciastka po dodaniu wytlóków miały więc sześciokrotnie wyższą zawartość błonnika pokarmowego, w porównaniu do ciastek bez dodatków. W ocenie sensorycznej najwyższą jakością charakteryzowały się ciastka, w których część mąki zastąpiono wytlókami malinowymi (zmielonymi i niezmielonymi) (10%) oraz ciastka z niezmielonymi wytlókami malinowymi na poziomie 20%. Najniżej zostały ocenione ciastka z udziałem łuski gryczanej (10%) oraz z dodatkiem zmielonych wytlóków malinowych (20%) [Górecka, 2011].

Kolejne badania zostały podjęte z wykorzystaniem wytlókowych suszy z owoców, które stanowiły dodatek do herbat owocowych. Wykazano, że wśród naparów uzyskanych z suszonych wytlóków z dzikiej róży, aronii, czarnej porzeczki, malin, truskawek, jeżyn oraz jabłek najwyższą aktywnością przeciwutleniającą charakteryzowały się napary z dzikiej róży oraz aronii. Ponadto wykazano możliwość dokonywania doboru wytlóków owocowych w celu kształtowania jakości organoleptycznej oraz zdolności przeciwutleniających w herbatach owocowych [Pacholek i in., 2014].

Właściwości antyoksydacyjne wytlóków

W procesach autooksydacji wielu związków, w tym lipidów, w procesie oddychania oraz podczas licznych reakcji enzymatycznych w ustroju człowieka powstają wolne rodniki. Mogą one pojawiać się także w wyniku przebytych infekcji bakteryjnych lub wirusowych i związanych z tym procesów fagocytozy [Pokorny i in., 2001]. Kluczową rolę w zapobieganiu szkodliwego oddziaływania wolnych rodników pełnią przeciwutleniacze, które są dostarczane do organizmu razem z żywnością.

Wytlóki uzyskane w procesie produkcji soków zawierają wiele cennych składników prozdrowotnych np.: polifenoli, w tym antocyjanów. Są wykorzystywane nie tylko jako dodatek do żywności dla ludzi, lecz przede wszystkim jako dodatek do pasz dla zwierząt lub na kompost. Przegląd piśmiennictwa wskazuje na coraz większe zainteresowanie pozyskiwaniem polifenoli i antocyjanów właśnie z wytlóków. Dodatkowym atutem wykorzystania tego produktu ubocznego jest to, że w procesie tłoczenia zdecydowana większość związków barwnych pozostaje w wytlókach, co stwarza możliwość wykorzystania wytlóków do zabarwiania produktów spożywczych. Stwierdzono np. że

w soku z aronii 34-40% całkowitej ilości antocyjanów zawartych w owocach, zatem ponad 60% z nich zostaje w wyłokach [Zawirska, 2007]. Opłacalność odzyskiwania naturalnych barwników zależy w głównej mierze od ich zawartości w danym surowcu. Dlatego też obserwuje się największe zainteresowanie wyłokami z czarnego bzu, wiśni, czarnych jagód, aronii i czarnej porzeczki. Innymi istotnymi składnikami wyłoków są witaminy oraz prowitaminy, np. karotenoidy zawarte w marchwi. W około 80% pozostają one w wyłokach i nie przechodzą do soków, podczas ich wytwarzania. Całkowita zawartość tych związków w wyłokach jest uzależniona od warunków w jakich zostało przeprowadzone tłoczenie i może dochodzić nawet do 2 g/kg suchej masy [Singh i in., 2006]. Oszmiański [2005] wykazał, że średnia zawartość związków fenolowych w soku z aronii po pasteryzacji wynosiła 3729,1mg/100 g, podczas gdy w wyłokach aż 10583,3 mg/100 g [Oszmiański i in., 2005]. Z kolei Peschal i in. [2006] przeprowadzili analizę średniej zawartości antocyjanów, w zależności od próby tłoczenia i jednoznacznie stwierdzili, że zawartość antocyjanów w wyłokach z czarnej porzeczki po pierwszym tłoczeniu wynosiła 2,02 g/100 g, z kolei po drugim tłoczeniu 0,874 g/100 g.

Materiał i metody

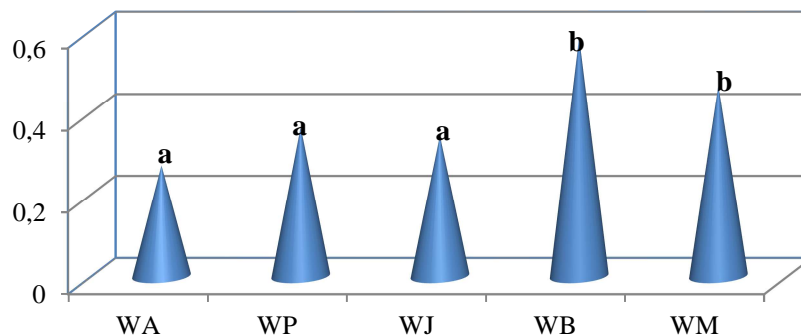
Również inne produkty odpadowe – pestki z owoców znajdują zastosowanie w produkcji np. olejów o wysokiej wartości biologicznej. Ich główną zaletą jest ich duża zawartość nienasyconych kwasów tłuszczowych. Dodatkowo pestki obfitują w witaminę E, która jest niezbędna do utrzymania stabilności oksydacyjnej występujących w oleju nienasyconych kwasów tłuszczowych (NNKT) [Ball, 2006]. Z kolei inną alternatywę utylizacji wyłoków np. z jabłek może stanowić wykorzystanie ich jako pożywki dla bakterii produkujących kwas mlekowy. Wynika to z ich cech mikrobiologicznych i jest związane z dużą zawartością w wyłokach związków, które łatwo ulegają metabolizowaniu przez bakterie kwasu mlekowego: sacharydów (mono i disacharydów) oraz kwasów organicznych (cytrynowy, jabłkowy).

Materiał badawczy stanowiły świeże wyłoki z owoców: aronii, jabłek, czarnej porzeczki oraz z warzyw: buraków i marchwi. W wyłokach oznaczono zawartość popiołu ogółem według PN-90A-75101/08, zawartość wybranych składników mineralnych metodą ICP – atomowej spektrometrii emisyjnej ze wzbudzeniem plazmowym, pomiar zdolności antyoksydacyjnej metodą redukcji rodnika DPPH według Yen i Chen [1995], zdolność wygaszania wolnego rodnika ABTS według Re i in. [1999]. Otrzymane wyniki zinterpretowano statystycznie na podstawie jednoczynnikowej analizy wariancji w oparciu o test F Snedecora i test t Studenta, przy poziomie prawdopodobieństwa błędu $p < 0,05$.

Wnioski i dyskusja

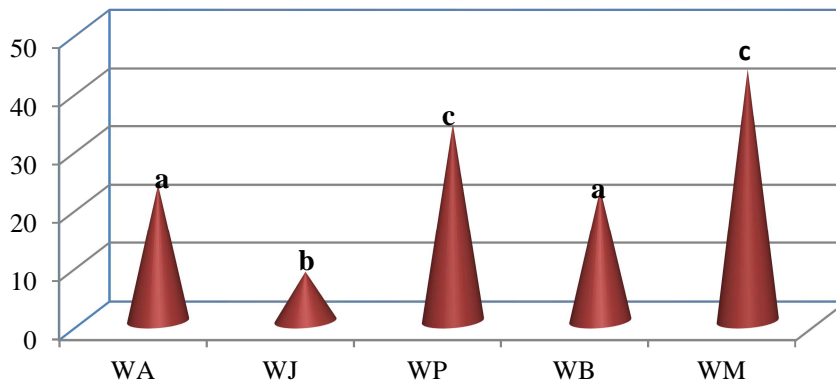
Na Rycinach 1-8 przedstawiono zawartość popiołu ogółem, składników mineralnych i aktywność przeciwutleniającą w wyciekach owocowych i warzywnych. Najwyższą zawartość popiołu wykazano w wyciekach z buraków – 0,582 g/100 g, najniższą w wyciekach z aronii (0,270 g/100 g). Analizując zawartość wybranych składników mineralnych najwyższą zawartością wapnia charakteryzowały się wycieki z marchwi (43,2 mg/100 g), najniższą wycieki z jabłek (8,22 mg/100 g). Wycieki z buraka i porzeczki miały porównywalną i najwyższą zawartość magnezu, odpowiednio 16,6 mg/100 g oraz 14,7 mg/100 g, a wycieki jabłkowe najniższą (4,5 mg/100 g). Na uwagę zasługuje wysoki poziom potasu w wyciekach z buraka 342 mg/100 g. Wycieki z jabłek oraz buraków charakteryzowały się najwyższą i porównywalną zawartością żelaza, która wynosiła odpowiednio 0,25 mg/100 g i 0,21 mg/100 g, a najmniej żelaza stwierdzono w wyciekach z marchwi (0,15 mg/100 g). Z kolei najwięcej cynku zawierały wycieki z buraków (0,68 mg/100 g), a najmniej z porzeczki i marchwi (odpowiednio 0,2 i 0,1mg/100 g). Zawartości metali ciężkich takich jak: kadm, ołów, rtęć w ocenianych wyciekach nie stwierdzono.

Najwyższą aktywność antyoksydacyjną wobec DPPH wykazywały wycieki z aronii (51,3µmol Troloxu/1 g produktu), a najniższą w wycieki z buraków (18,0 µmol Troloxu/1 g). Z kolei wycieki z jabłek charakteryzowały się najwyższą zdolnością wygaszania wolnego rodnika ABTS (56 µmol Troloxu/1 g produktu), najniższą wykazano w wyciekach z czarnej porzeczki (28 µmol Troloxu/1 g).



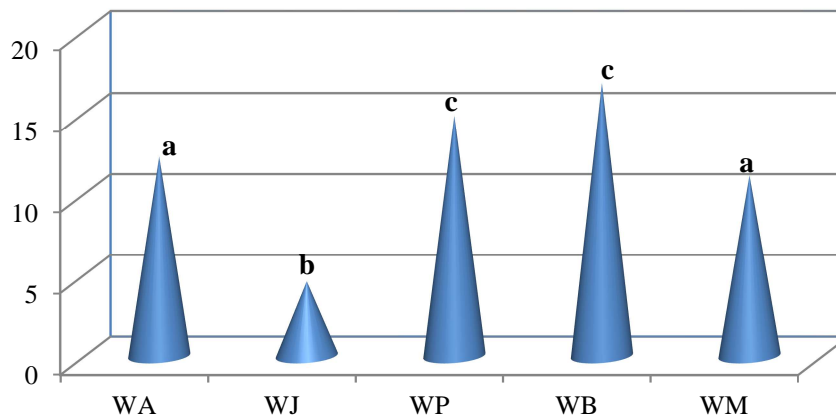
- WA- wycieki z aronii
- WP- wycieki z porzeczki
- WJ- wycieki z jabłek
- WB- wycieki z buraków
- WM- wycieki z marchwi

Rycina 1. Zawartość popiołu w wyciekach owocowych i warzywnych [g/100 g]



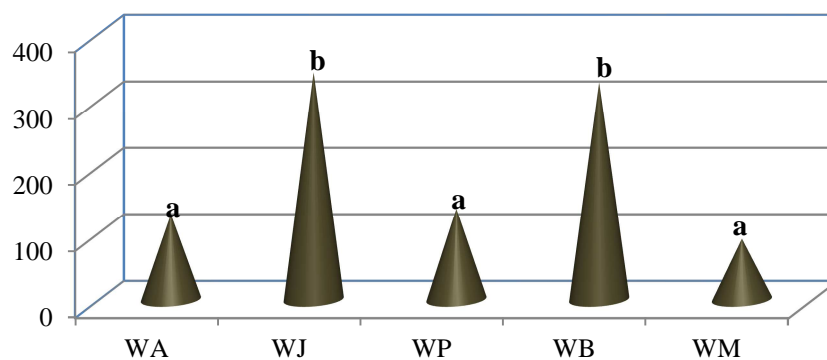
WA - wyciągi z aronii
 WP - wyciągi z porzeczki
 WJ - wyciągi z jabłek
 WB - wyciągi z buraków
 WM - wyciągi z marchwi

Rycina 2. Zawartość wapnia w wyciągach owocowych i warzywnych [mg/100 g]



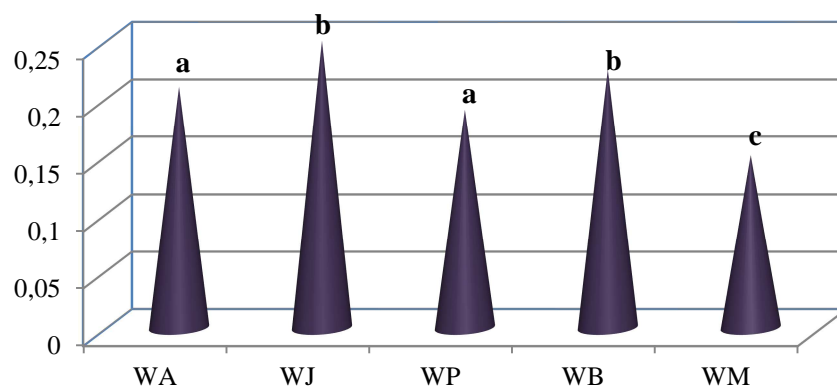
WA- wyciągi z aronii
 WP- wyciągi z porzeczki
 WJ- wyciągi z jabłek
 WB- wyciągi z buraków
 WM- wyciągi z marchwi

Rycina 3. Zawartość magnezu w wyciągach owocowych i warzywnych [mg/100 g]



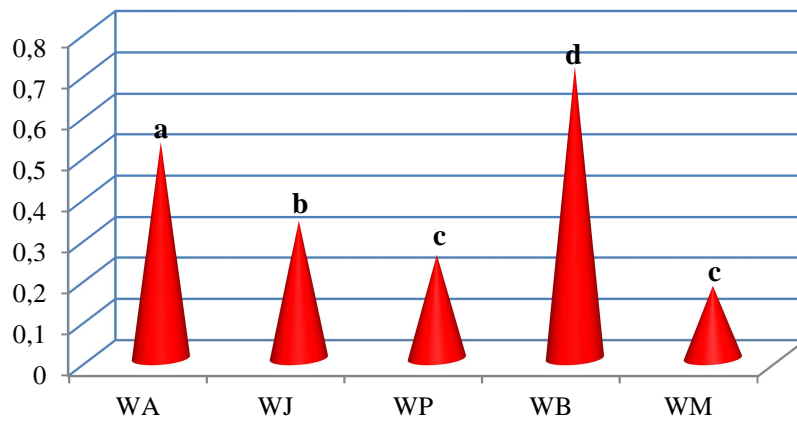
WA- wycłoki z aronii
 WP- wycłoki z porzeczki
 WJ- wycłoki z jabłek
 WB- wycłoki z buraków
 WM- wycłoki z marchwi

Rycina 4. Zawartość potasu w wycłokach owocowych i warzywnych [mg/100 g]



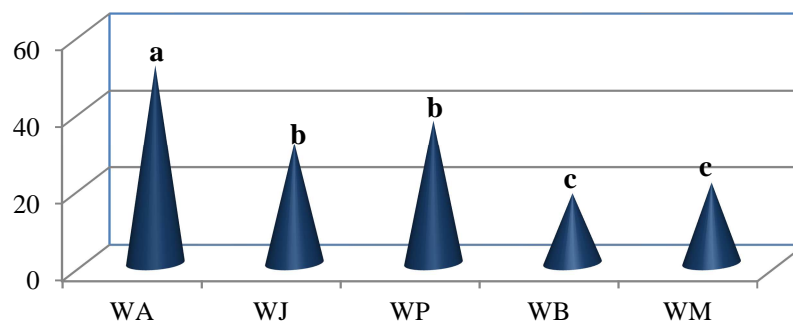
WA- wycłoki z aronii
 WP- wycłoki z porzeczki
 WJ- wycłoki z jabłek
 WB- wycłoki z buraków
 WM- wycłoki z marchwi

Rycina 5. Zawartość żelaza w wycłokach owocowych i warzywnych [mg/100 g]



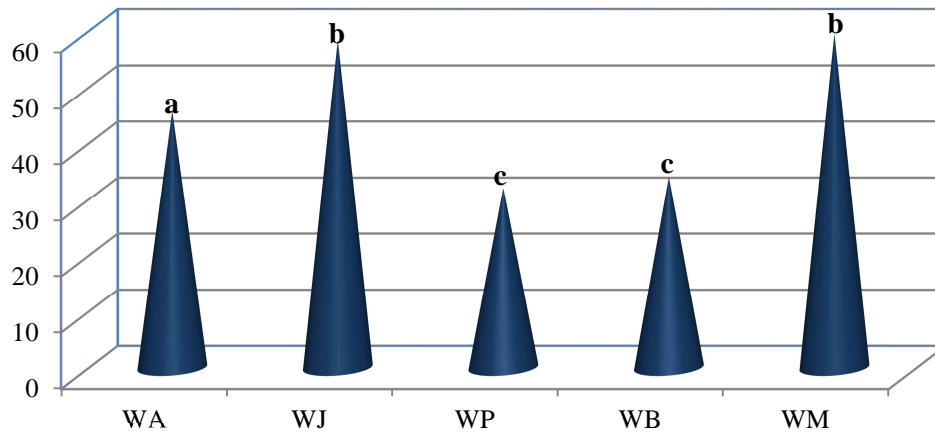
WA- wycłoki z aronii
 WJ- wycłoki z jabłek
 WP- wycłoki z porzeczki
 WB- wycłoki z buraków
 WM- wycłoki z marchwi

Rycina 6. Zawartość cynku w wycłokach owocowych i warzywnych [mg/100 g]



WA- wycłoki z aronii
 WP- wycłoki z porzeczki
 WJ- wycłoki z jabłek
 WB- wycłoki z buraków
 WM- wycłoki z marchwi

Rycina 7. Poziom aktywności przeciwutleniającej w wycłokach owocowych i warzywnych (DPPH) [µmol Troloxu/1 g]



WA- wytłoki z aronii
 WP- wytłoki z porzeczki
 WJ- wytłoki z jabłek
 WB- wytłoki z buraków
 WM- wytłoki z marchwi

Rycina 8. Poziom aktywności przeciwutleniającej w wytyłokach owocowych i warzywnych (ABTS) [$\mu\text{mol Troloxu}/1 \text{ g}$]

W badaniach Sosnowskiej i in. [2004], nad wytyłokami z aronii, czarnej porzeczki i jagody kamczackiej, najwyższą aktywnością cechowały się wytyłoki z aronii, zarówno w przypadku DPPH, jak i FRAP. W przypadku zdolności wygaszania wolnego rodnika ABTS najwyższe wartości uzyskano w przypadku wytyłoków z jagody kamczackiej, [Sosnowska i in., 2004]. Z kolei badania aktywności przeciwutleniającej względem ABTS w wytyłokach z jagody kamczackiej wykazały pięciokrotnie wyższą aktywność, w porównaniu do aktywności wytyłoków z pigwowca japońskiego. Również istotną różnicę wykazano w przypadku DPPH, najwyższą zdolnością charakteryzowały się wytyłoki z aronii i były one dziesięciokrotnie wyższe, w odniesieniu do wytyłoków z pigwowca japońskiego [Nawirska i in., 2004].

Przeprowadzono również analizę zdolności uwalniania kationów Mg^{2+} z włókna aroniowego. Wyniki wykazały wysoką zdolność desorpcji jonów magnezu. Wytyłoki pozyskane zarówno z owoców, jak i z warzyw są dobrymi absorbentami metali ciężkich, a ich średni poziom był uzależniony od warunków w jakich został prowadzony proces. Wysoką sorpcją ołowiu charakteryzowały się wytyłoki z czarnych porzeczek, bez względu na to czy były suszone, czy świeże [Borycka i in., 2000]. Z kolei dość niską zdolność wiązania kadmu wykazano w przypadku wytyłoków pozyskanych z aronii. Podobnej obserwacji dokonano w próbach otrzymanych w późniejszych sezonach. Poziom kadmu w wytyłokach aroniowych wynosił 2% dopuszczalnej dawki, natomiast w próbach

z czarnych porzeczek średnio około 36%. Z kolei analiza zdolności uwalniania kationów Mg^{2+} z wyłoków aroniowych wykazała desorpcję jonów magnezu na wysokim poziomie (średni poziom $DMg > 95\%$). Dodatkowo stwierdzono porównywalny poziom desorpcji jonów magnezu, który nie był zależny od wartości pH oraz temperatury. Po analizie desorpcji magnezu w wyłokach z czarnych porzeczek oraz jabłek wykazano zbliżone wartości [Borycka i in., 2002].

Podsumowanie

1. Wyłoki z wybranych gatunków owoców i warzyw charakteryzowały się wysoką zawartością składników mineralnych.
2. Wykazano wysoką zdolność przeciwutleniającą w analizowanych wyłokach owocowych oraz warzywnych.
3. Wyłoki owocowe oraz warzywno mogą stanowić dobry dodatek do żywności np. w cukiernictwie.

Badania zostały sfinansowane z dotacji przyznanej przez MNiSW na działalność statutową

Literatura

1. Antosik K. (2017). Wartość odżywcza żywności tradycyjnej. Zeszyty Naukowe Uczelni Vistula, 54(3), 214-222.
2. Ball G.F.M. (2006). Vitamins in foods: analysis, bioavailability, and stability. CRC Press Taylor & Francis Group LLC, Boca Raton.
3. Borycka B. (2004). Biopaliwo z niektórych odpadów przemysłu rolno spożywczego. Gospodarka Paliwami i Energią, 5, 21-26.
4. Borycka B. (2000). Relationships between calcium and lead on pomace dietary fibre. Polish Journal of Food and Nutrition Sciences, 1, 23-28.
5. Borycka B., Borycki J. (2002). Wiązanie kadmu w obecności magnezu przez wybrane preparaty wyłokowe. Żywność. Nauka. Technologia. Jakość, 3, 77-87.
6. Borycka B. (2007). Wyłoki jabłkowe jako odnawialne biomasowe źródło energii Towaroznawcze Problemy Jakości, 3, 77-84.
7. Górecka D., Pacholek B., Napierała K., Dziedzic K. (2011). Ocena możliwości wykorzystania wysokobłonnikowych odpadów przemysłu owocowego i zbożowego w produkcji wyrobów ciekawych o cechach prozdrowotnych. Zeszyty Naukowe, 205, 140-148.
8. Kosmala M., Sojka M., Miszczak A., Sikorski P., Zagibajło K., Włodarek A., Czajka A., Robak J., Krol B. Ocena potencjału aplikacyjnego wyłoków, pochodzących z przetwórstwa truskawek i malin na soki. Przemysł Fermentacyjny i Owocowo-Warzywny, (59), 5, 15-17.
9. Middleton E., Kandaswamy C., Theoharides T.C. (2000). The effects of plant flavonoids on mammalian cells: implications for inflammation, heart disease, and cancer. Pharmacological Reviews, 52, 673-751.
10. Murphy N., Norat T., Ferrari P. (2012). Dietary fibre intake and risks of cancers of the colon and rectum in the European prospective investigation into cancer and nutrition (EPIC). PLoS One, 7, 3936.
11. Nawirska A. (2007). Zagospodarowanie odpadów z przemysłu owocowo-warzywnego. Przemysł Fermentacyjny i Owocowo-Warzywny, 10, 44-46.
12. Oszmiański J. (2002). Stabilizacja i zastosowanie barwnika antocyjanowego aronii do barwienia napoi. Acta Scientiarum Polonorum Technologia Alimentaria, 1 (1), 37-45.
13. Oszmiański J., Wojdyło A. (2005). *Aronia melano carpathenolics* and their antioxidant activity. European Food Research and Technology, 221, 801-813.

14. Pacholek B., Krawczyk K., Żak E. (2014). Potential use of dried fruit pomaces to create sensory properties and antioxidant activity of fruit teas. *Towaroznawcze Problemy Jakości*, 3, 77-84.
15. Peschal W., Sánchez-Rabaneda F., Diekmann W., Plescher A., Gartzía I., Jiménez D., Lamuela-Raventós R., Buxaderas S., Codina C. (2006). An industrial approach in the search of natural antioxidants from vegetable and fruit waste. *Food Chemistry*, 97, 137-150.
16. Pokorny J., Yanishlieva N., Gordon M. (2001). *Antioxidants in food*. Woodhead Publishing Limited Cambridge.
17. Singh B., Panesar P.S., Nanda V. (2006). Utilization of carrot pomace for the preparation of a value added product. *World Journal of Dairy & Food Sciences*, 1, 22-27.
18. Sosnowska D., Podsedek A., Anders B. (2004). Aktywność antyoksydacyjna preparatów flawonoidów z owoców jagodowych. *Materiały Konferencyjne. Flawonoidy i ich zastosowanie. Rzeszów*, 277-286.
19. Świątkiewicz S., Koreleski J. (2003). Próba zastosowania suszonych wyłoków jabłecznych jako dodatku dietetycznego w żywieniu kur nieśnych. *Polskie Drobiarstwo*, 4, 11-13.
20. Temple N.J. (2000). Antioxidants and disease: more questions than answers. *Nutrition Research*, 20, 449-459.

IWONA JASIŃSKA-KULIGOWSKA¹, PIOTR SUSZKO², MACIEJ KULIGOWSKI³

¹Katedra Towaroznawstwa Żywności, Wydział Towaroznawstwa, Uniwersytet Ekonomiczny w Poznaniu,
e-mail: iwona.jasinska-kuligowska@ue.poznan.pl

²Wydział Towaroznawstwa, Uniwersytet Ekonomiczny w Poznaniu

³Zakład Fermentacji i Biosyntezy, Instytut Technologii Żywności Pochodzenia Roślinnego, Wydział Nauk
o Żywności i Żywieniu, Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, maciek@up.poznan.pl

WYTŁOKI LNIANE JAKO ŹRÓDŁO FITOESTROGENÓW I INNYCH ZWIĄZKÓW BIOAKTYWNYCH

Wprowadzenie

Len (*Linum usitatissimum* L.), należący do rodziny *Linaceae*, jest jedną z najstarszych roślin uprawnych na świecie. Znaczenie gospodarczym mają dwie formy użytkowe lnu – włóknisty (*Linum usitatissimum* L. var. *elongatum* Vav.) oraz oleisty (*Linum usitatissimum* L. var. *brevimulticaulis* Vav.). Len oleisty uprawiany jest głównie w Kanadzie, Rosji, Chinach, Indiach oraz w Kazachstanie. W Europie głównymi producentami są Wielka Brytania i Francja. Kraje Unii Europejskiej są głównymi importerami siemienia lnianego. Powierzchnia upraw w Polsce wynosiła w 2016 roku 7457 ha z produkcją w wielkości 8287 ton. W Polsce zarejestrowane są 4 odmiany lnu oleistego – 2 złociste (nasiona koloru żółtego) – Jantarol i Oliwin oraz 2 brązowe – Bukoz i Szafir [FAOSTAT, Kozłowski, 2006; Zajac i in., 2010, Popis i in., 2015].

W krajach UE roczne zapotrzebowanie na nasiona lnu oleistego kształtuje się na poziomie 0,6 mln ton, z czego większość (około 75%) wykorzystywana jest jako siemię mielone, 20% przeznaczane jest na pasze, a tylko około 5% znajduje zastosowanie jako składnik żywności. W Unii Europejskiej nasiona lnu są w znacznym stopniu importowane, ze względu na niewystarczającą produkcję na terenie krajów członkowskich [Heller i in., 2011].

W ostatnich latach obserwuje się wzrost zainteresowania konsumentów olejem lnianym, jak i poszukiwanie nowych alternatyw w produkcji żywności bogatej w składniki bioaktywne, co może przyczynić się do zwiększenia areалу upraw, jak i produkcji lnu i oleju lnianego. Tłoczony na zimno olej lniany jest polecany przez dietetyków ze względu na skład kwasów tłuszczowych, szczególnie duże ilości (ponad 90%) nienasyconych kwasów tłuszczowych, w tym zaliczany do rodziny omega 3 kwas α -linolenowy (C18:3). W 2013 roku produkcja oleju lnianego w Polsce wynosiła 3904 ton. Krajowa produkcja nie pokrywa zapotrzebowania na siemię lniane i wyprodukowany z niego olej [Popis i in., 2015].

Nasiona lnu jak również pozostałe po tłoczeniu wyłoki lniane są źródłem wielu związków bioaktywnych. W ostatnich latach len wzbudza duże zainteresowanie w wyniku badań potwierdzających w nim obecność składników o właściwościach prozdrowotnych, wykazujących profilaktyczną rolę wobec niektórych chronicznych chorób niezakaźnych (cukrzyca, miażdżyca, nowotwory hormonozależne). Pozytywny wpływ, obejmujący przeciwdziałanie chorobom cywilizacyjnym, wynika z obecności w nasionach lnu składników takich jak kwas alfa-linolenowy, lignany i inne polifenole, a także polisacharydy nieskrobiowe.

Wyłoki (makuchy) powstające jako produkt uboczny w procesie tłoczenia oleju na zimno w większości przeznaczane są na pasze dla zwierząt, mogą jednak stanowić cenne źródło składników bioaktywnych w diecie człowieka. Makuchy stanowią pozostałość poprodukcyjną, nadającą się do bezpośredniego wykorzystania bez uprzedniego przetwarzania, mogą również stanowić surowiec do produkcji innych wyrobów. Makuch lniany zawiera około 30-35% białka i od 7 do 20% tłuszczu (w zależności od metody tłoczenia), jest również skoncentrowanym źródłem lignanów. Zawartość kwasów fenolowych w wyłokach lnianych wynosi od 1,3 do 2,2 mg/g [Carter, 1993; Wanasundara i Shahidi, 1994, Gutierrez i in., 2010; Mueller i in., 2010].

Lignany stanowią jedną z trzech klas fitoestrogenów (obok stilbenów i flawonoidów), związków pochodzenia roślinnego, wykazujących w organizmach ssaków słabą aktywność estrogenową [Landete 2012]. Obecność lignanów wykazano w nasionach roślin oleistych, zbożach, roślinach strączkowych, owocach (głównie jagodowych) i warzywach. W roślinach związki te, będące metabolitami wtórnymi, pełnią m.in. funkcję ochronną przed działaniem wirusów i bakterii. Zlokalizowane są w różnych częściach roślin m.in. w nasionach, łodygach, liściach, korzeniach i kwiatach. Aktywność fitoestrogenów określana jest na około 1000 razy niższą w porównaniu z 17β -estradiolem (głównym żeńskim hormonem płciowym). Na organizm człowieka lignany oddziałują wielokierunkowo, m.in. mogą przeciwdziałać występowaniu i rozwojowi nowotworów hormonozależnych, zapobiegać osteoporozie i chorobom układu krążenia [Mazur i Adlercreutz, 2000; Albertazzi i Purdie, 2002; Duncan i in., 2003; Phipps i Kurzer, 2003; Adolphe i in., 2010; Touré i Xueming, 2010; Landete, 2012]. W ostatnich latach liczba publikacji na temat tej grupy związków w żywności wzrasta ze względu na ich funkcje biologiczne i aktywność wobec organizmów żywych.

Podstawowym elementem struktury lignanów jest szkielet 2,3-dibenzylobutanu. Zaliczane są one do związków fenolowych, powstających na drodze dimeryzacji dwóch cząstek alkoholi hydroksycynamonowych. Szkielet związku tworzą dwie podstawowe jednostki propylobenzenowe (C₆C₃) połączone w pozycji 8 i 8' (β - β').

Lignany stanowią dużą grupę związków o zróżnicowanej budowie. Do tej pory najlepiej poznano lignany zaliczane do tetrahydrofuranów, furofuranów, dibenzyllobutanów, dibenzyllobutyrolaktonów (sekoizolaricirezinol, matairezolinol, pinorezinol, laricirezinol, syringarezinol, sezamina, sezamolina) [Moss, 2000; Wu i. in., 2004; Waszkowiak, 2013; Jasińska i in., 2014].

Najbogatszym znanym źródłem lignanów (6,1-28,8 mg/g) są nasiona lnu. Głównym związkiem należącym do lignanów występującym w tych nasionach jest dwuglukozyd sekoizolaricirezinolu (SDG), który wkomponowany jest w cząsteczkę oligomeru [Fang i in., 2013; Jasińska i in., 2014].

Celem badań była analiza jakościowa i określenie zależności ilościowych i właściwości bioaktywnych składników wyłóków, otrzymanych po tłoczeniu na zimno oleju lnianego z dwóch odmian (złotej i brązowej), pochodzących z dwóch lokalnych zakładów przemysłu olejarskiego (z regionu Wielkopolski).

Materiały i metody

Materiał doświadczalny stanowiły wyłoki nasion lnu otrzymane po tłoczeniu na zimno oleju lnianego z dwóch odmian (złotej i brązowej), pochodzących z dwóch lokalnych zakładów przemysłu olejarskiego (z regionu Wielkopolski). Opis próbek stosowany w pracy był następujący:

- wyłoki pochodzące z firmy 1:
 - próbka A – wyłok lnu brązowego
 - próbka B – wyłok lnu złocistego
- wyłoki pochodzące z firmy 2:
 - próbka C – wyłok lnu brązowego
 - próbka D – wyłok lnu złocistego

Wyłoki zmielono z zastosowaniem młynka elektrycznego, (WŻ-1S Sadkiewicz Instruments), a następnie odfuszczone za pomocą heksanu. Uzyskany materiał poddano ekstrakcji. Ekstrakcję w celu oznaczenia właściwości przeciwrodnikowych oraz zawartości związków fenolowych przeprowadzono przy użyciu 80% alkoholu etylowego. Oceny właściwości przeciwutleniających ekstraktów uzyskanych z wyłóków lnianych dokonano na podstawie oznaczenia właściwości przeciwrodnikowych w teście z kationorodnikiem ABTS (potencjał antyoksydacyjny wyrażono w mg Troloxu) [Re i in., 1999]. Zawartość związków fenolowych oznaczono za pomocą metody spektrofotometrycznej z wykorzystaniem odczynnika Folina-Ciocalteu opracowanej przez Chandler i Dodds [1983] z modyfikacją Shetty i in. [1995]. Do przygotowania krzywej wzorcowej zastosowano kwas galusowy (GA). Pomiaru dokonano przy długości fali 725 nm.

Zawartość dwuglukozydu sekoizolaricirezinolu (SDG) – głównego lignanu Inu oznaczono z zastosowaniem wysokosprawnej chromatografii cieczowej UPLC-PDA (UPLC Acquity™ Waters, Milford, MA, USA). Ekstrakcję lignanu z wytlóków lnianych przeprowadzono przy użyciu uwodnionego metanolu, następnie zastosowano hydrolizę zasadową w celu uwolnienia glukozydu z cząsteczek oligomerów. Ekstrakcję przeprowadzano dwukrotnie, następnie próbki wstawiano do łaźni ultradźwiękowej na 15 minut. Po odwirowaniu próbki poddano koncentracji z zastosowaniem wyparki próżniowej i liofilizacji (Liofilizator Christa, Alpha 2-4 LD plus). Hydrolizę zasadową przeprowadzano przy użyciu NaOH. Procedurę ekstrakcji dobrano na podstawie Johnsson i in. [2000] oraz Eliasson i in. [2003] z kilkoma modyfikacjami [Wiesenborn i in., 2003; Beejmohun i in., 2007; Czemplik i in., 2011; Fang i in., 2013]. Przygotowane ekstrakty przechowywano w temperaturze -20°C do czasu analizy.

Analizę chromatograficzną przeprowadzono na kolumnie ACQUITY UPLC BEH C18 (100 x 2.1 mm; 1.7 µm; Waters, Milford, MA, USA) wyposażonej w przedkolumnę. Przed nastrzykiem na UPLC-PDA próbki odpowiednio rozcieńczano a następnie filtrowano przez filtry strzykawkowe 45 µm GHP Acrodisc 13 mm. Objętość nastrzykiwanej próbki wynosiła 10 µl. Zastosowano rozdział gradientowy składający się z dwóch faz: A – woda z dodatkiem kwasu octowego, B – acetonitryl. Elucja przebiegała od 5% do 98% fazy B, następnie układ powracał do warunków początkowych. Absorbancję mierzono przy długości fali 280 nm. Do opracowania i analizy wyników wykorzystano oprogramowanie Empower pro (WATERS).

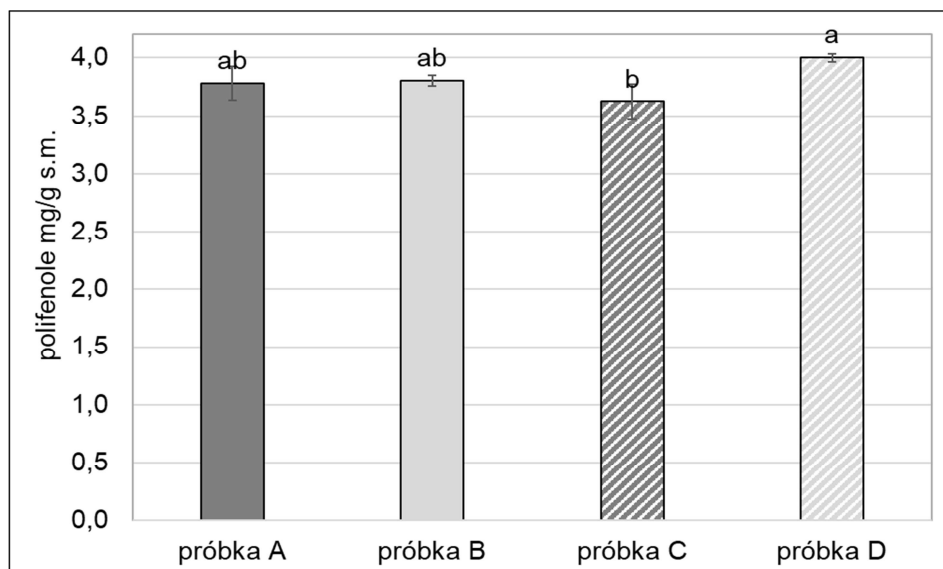
Standard kwasu galusowego oraz dwuglukozydu sekoizolaricirezinolu zakupiono w Sigma-Aldrich (St. Louis, MO). Stosowane odczynniki – acetonitryl, metanol, etanol, heksan, kwas octowy były klasy czystości HPLC. ABTS (2,2'-azobis(3-etylobenzotiazolino-6-sulfonian), odczynnik Folin-Ciocalteu oraz Trolox (6-hydrokso-2,5,7,8-tetrametylochromian-2-kwas karboksylowy), zakupiono w Aldrich-Chemical (St. Louis, MO).

Wszystkie oznaczenia wykonano w co najmniej 3 powtórzeniach. Analizę statystyczną wyników przeprowadzono z wykorzystaniem oprogramowania Microsoft Excel 2013 oraz Statistica 12.0 StatSoft. Wyznaczono współczynniki korelacji liniowej Pearsona w celu określenia relacji pomiędzy poszczególnymi parametrami. Przeprowadzono analizę regresji liniowej. Istotność różnic określono na podstawie testu Tukey`a, dokonano również analizy uzyskanych danych z zastosowaniem analizy składowych głównych (PCA).

Wyniki i dyskusja

Najwyższą zawartość związków polifenolowych zaobserwowano w próbce D, był to wytlók uzyskany po tłoczeniu nasion lnu złocistego firmy 2 (rysunek 1). Najniższą zawartością cechowała się próbka C, był to również wytlók wyżej wymienionej firmy ale odmiany brązowej. Związki fenolowe stanowiły ogółem 0,3-0,44 % suchej masy odtłuszczonego wytlóku lnianego w badanych próbkach. Różnice istotne statystycznie zaobserwowano między próbkami C i D. W badaniach Kahkonen i in. [1999] zawartość polifenoli w nasionach lnu wynosiła 0,8 mg GA/g s.m. nasion. Czemplik i in. [2011] dla nasion lnu odmiany Linola uzyskali zawartość związków polifenolowych 29,5 mg/g, natomiast Mińkowski i in. [2013] oznaczyli polifenole w odtłuszczonych nasionach lnu na poziomie 9,9 mg GA/g s.m. Ho i in. [2007] w mące lnianej uzyskali zawartość 20.8 mg GA/g ekstraktu. Zawartość związków polifenolowych w badaniach Barthet i in. [2014] dla nasion lnu złocistego i brązowego kształtowała się na zbliżonym poziomie i wynosiła odpowiednio 92.3 i 91.2 mg GA na g s.m. ekstraktu metanolowego. W badaniach Gutiérrez i in. [2010] zawartość związków polifenolowych kształtowała się w wytlókach lnu brązowego na znacznie niższym poziomie i wynosiła 0.7 mg GA na g ekstraktu. Nie poddano w tym przypadku analizie wytlóków lnu złocistego.

Różnice w zawartości związków polifenolowych podawane przez różnych autorów mogą wynikać z odmiennych metod przygotowania ekstraktów.

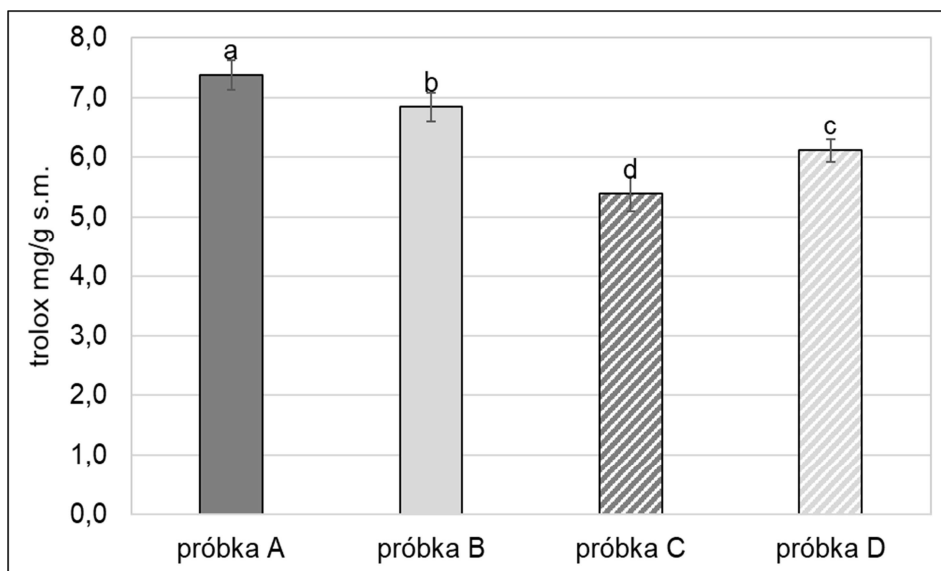


Rysunek 1. Zawartość polifenoli ogółem w wytlókach lnianych*

*wartości oznaczone tymi samymi literami nie różnią się statystycznie istotnie na poziomie $p = 0,05$

Analiza właściwości przeciwutleniających metodą z kationorodnikiem ABTS (rysunek 2) wykazała, że najwyższą zdolnością antyoksydacyjną charakteryzował się wyłtok A (z lnu brązowego) z firmy 1 (7,38 mg Trolox/g s.m.) Wyłtokami o nieco słabszej aktywności przeciwutleniającej były wyłtok D (6,11 mg Trolox/g s.m.) oraz B (6,85 mg Trolox/g s.m.). Najmniejszy potencjał antyoksydacyjny wykazywał wyłtok C – 5,39 mg Trolox/g s.m. Aktywność przeciwutleniająca, oznaczona wobec rodników ABTS, wyłtoków A (len brązowy) z firmy 1 była o prawie 27% większa niż aktywność wyłtoków D (len brązowy) z firmy 2. Badane próbki różniły się statystycznie istotnie.

W badaniach przeprowadzonych przez Waszkowiak i in. [2015] porównywano właściwości przeciwutleniające oznaczone testem ABTS dla trzech odmian lnu: dwóch złotych (Jantarol i Oliwin) oraz jednej brązowej (Szafir). Wyższe wartości dla potencjału antyoksydacyjnego uzyskano dla odmiany brązowej. W niniejszej pracy nie stwierdzono podobnej zależności. Może być to związane z rodzajem użytego surowca, ponieważ w badaniach Waszkowiak i in. [2015] próbki nie były wyłtokami tylko pełnym ziarnem, lub zastosowaniem odmiennej metody ekstrakcji.

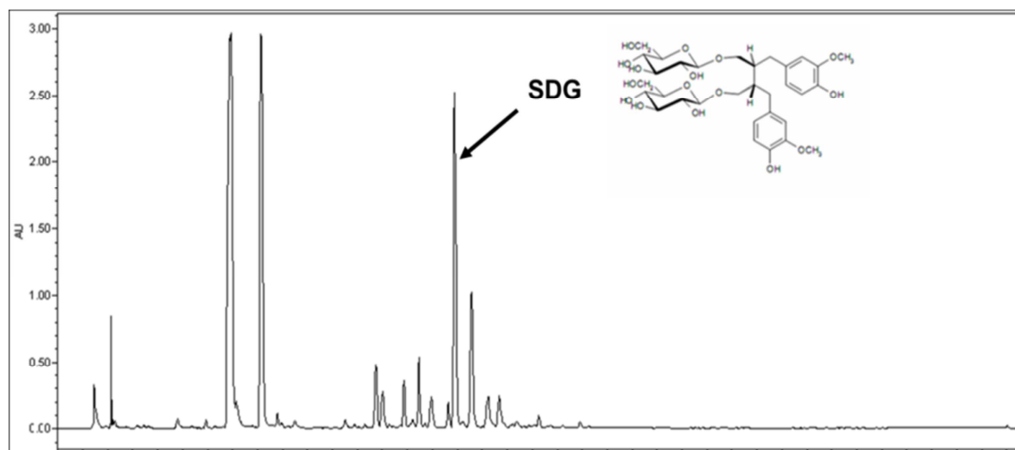


Rysunek 2. Potencjał antyoksydacyjny wyłtoków lnianych*

*wartości oznaczone tymi samymi literami nie różnią się statystycznie istotnie na poziomie $p = 0,05$

Zawartość lignanów w surowcach roślinnych jest zróżnicowana i uzależniona od wielu czynników m.in. odmiany, regionu geograficznego, warunków klimatyczno-glebowych wzrostu, stopnia dojrzałości, warunków przechowywania [Meagher i Beecher, 2000; Charlet i in., 2002; Fang i in., 2013].

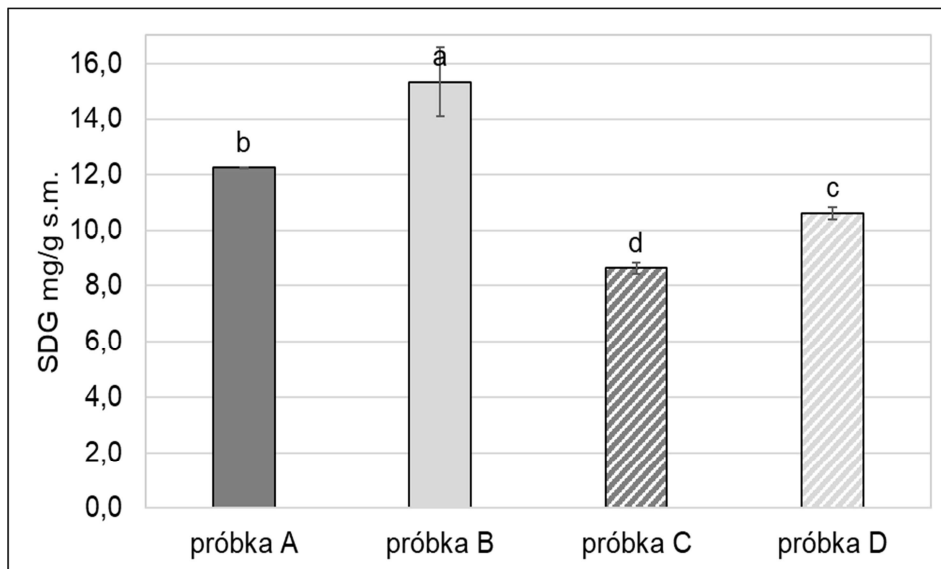
We wszystkich badanych próbkach wyłoków potwierdzono obecność i oznaczono ilościowo dwuglukozyd sekoizolaricirezinolu (SDG). Na rysunku 3 przedstawiono przykładowy chromatogram uzyskany dla ekstraktu z wyłoku lnianego poddanego hydrolizie.



Rysunek 3. Przykładowy chromatogram uzyskany dla ekstraktu z wyłoku lnianego poddanego hydrolizie.

Najwyższą zawartość SDG zaobserwowano w wyłoku B (15,34 mg/g s.m.), uzyskanym po tłoczeniu nasion lnu złocistego z firmy 1 (rysunek 4). Najniższą zawartością dwuglukozydu sekoizolaricirezinolu charakteryzowała się próbka C (8,62 mg/g s.m.). W próbkach pochodzących od tego samego producenta wyłoki z lnu złotego charakteryzowały się statystycznie istotnie wyższą zawartością SDG niż wyłoki z lnu brązowego.

Według danych literaturowych zawartość glukozydu sekoizolaricirezinolu w odtłuszczonych wyłokach lnianych kształtuje się w szerokim zakresie od 6 do 26 mg na g/s.m [Johnsson i in., 2000; Eliasson i in., 2003; Chen i in. 2007; Fuentealba i in., 2015]. Uzyskane wartości mieszczą się w tym przedziale. W badaniach Czemplik i in. [2011] w nasionach lnu złocistego odmiany Linola oznaczono SDG na poziomie 13,5 mg/g nasion, natomiast odmiany lnu genetycznie modyfikowanego cechowały się znacznie wyższą zawartością na poziomie od 36,8 do 58,3 mg/g. Tian i in. [2015] w wyłokach otrzymanych z brązowej odmiany lnu Yunnan YY-3 oznaczyli dwuglukozyd sekoizolaricirezinolu w ilości 16.25 mg/g s.m.



Rysunek 4. Zawartość dwuglukozydu sekoizolaricirezinolu (SDG) w wyłokach lnianych*

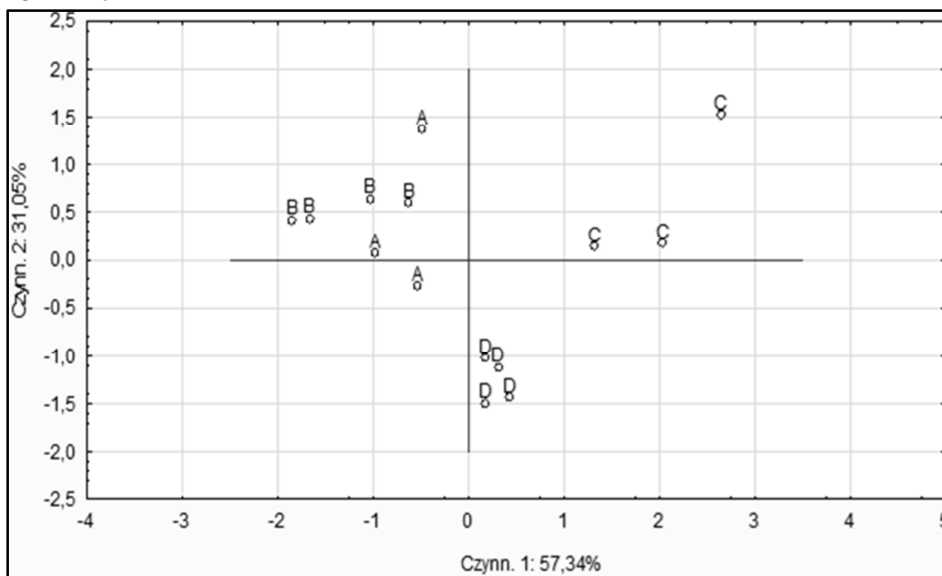
*wartości oznaczone tymi samymi literami nie różnią się statystycznie istotnie na poziomie $p = 0,05$

Uzyskane dane (zawartość związków fenolowych i SDG oraz aktywność przeciwutleniająca) były analizowane za pomocą analizy składowych głównych (PCA). Różnicowanie próbek badanych wyłoków przedstawiono na rysunku 5. Wyodrębnione zostały trzy grupy o odmiennym profilu zawartości i aktywności związków prozdrowotnych. Pierwszą, najbardziej zbliżoną pod względem ocenianych cech, stanowiły próbka A i B, pochodzące od jednego producenta, kolejną próbka C (len brązowy, firma 2), natomiast trzecią próbka D (len złoty) również z firmy 2. Nie stwierdzono wpływu odmiany (len brązowy lub złoty), jako głównej cechy różnicującej próbki.

Analiza statystyczna wykazała korelację na poziomie 0,66 pomiędzy aktywnością przeciwutleniającą a zawartością dwuglukozydu sekoizolaricirezinolu. Nie wykazano silnej korelacji pomiędzy zawartością związków fenolowych i SDG (0,13). W przypadku całkowitej zawartości związków fenolowych i aktywności przeciwutleniającej korelacja była również niska i wynosiła 0,11.

Ekstrakcja SDG wymaga zastosowanie roztworów o wyższej polarności niż te stosowane w ekstrakcji do oznaczenia aktywności przeciwutleniającej i zawartości związków fenolowych, a następnie przeprowadzenie hydrolizy zasadowej. Ekstrakty metanolowe mogą zawierać wolne aglikony lignanów, jednak w przypadku nasion lnu

ich zawartość nie jest wysoka i większość sekoizolaricirezinolu występuje w postaci dwuglukozydu.



Rysunek 5. Rzut badanych przypadków na płaszczyznę czynników.

W wszystkich badanych ekstraktach, zarówno poddanych jak i niepoddanych hydrolizie, nie wykryto obecności wolnych lignanów – matairezinolu i sekoizolaricirezinolu. Podobne wyniki uzyskali Gerstenmeyer i in. [2013], którzy nie stwierdzili obecności zarówno glikozydów jak i aglikonów lignanów w ekstraktach etanolowych niepoddanych hydrolizie, analizowanych z zastosowaniem LC-MS [Gerstenmeyer i in., 2013].

Podsumowanie i wnioski

Właściwości prozdrowotne i funkcjonalne wyłoków uzyskiwanych po tłoczeniu olejów na zimno czynią je interesującym obiektem wielu badań naukowych. W niniejszej pracy wykazano, że wyłoki lniane pochodzące od lokalnych producentów oleju tłoczonego na zimno mogą jako surowiec stanowić cenne źródło składników prozdrowotnych w produkcji żywności.

Na podstawie przeprowadzonych badań sformułowano następujące obserwacje i wnioski:

1. Zawartość związków polifenolowych w badanych próbkach wyłoków kształtowała się na poziomie 3,62-4,0 mg/g s.m.

2. We wszystkich analizowanych wyłokach potwierdzono obecność lignanu – dwuglukozydu sekoizolaricirezinolu. Najwyższą zawartością SDG charakteryzował się wyłok uzyskany po tłoczeniu lnu złocistego z firmy 1 (15,34 mg/g s.m.).

3. Wyłoki lniane otrzymane po tłoczeniu olejów na zimno wykazują zdolność wygaszania wolnych rodników. Największy potencjał antyoksydacyjny wykazał wyłok lnu brązowego pochodzący z firmy 1, natomiast najniższą wyłok lnu brązowego z firmy 2.

4. Wyłoki lniane stanowią cenne źródło składników prozdrowotnych jako surowiec do produkcji żywności.

Literatura

1. Adolphe J.L., Whiting S.J., Juurlink B.H.J., Thorpe L.U., Alcorn J. (2010). Health effects with consumption of the flax lignan secoisolariciresinol diglucoside. *The British Journal of Nutrition*, 103, 929-938.
2. Albertazzi P., Purdie D.W. (2002). The nature and utility of the phytoestrogens - a review of the evidence. *Maturitas*, 42, 173-185.
3. Barthelet V.J., Klensporf-Pawlik D., Przybylski R. (2014). Antioxidant activity of flaxseed meal components. *Canadian Journal of Plant Science*, 94: 593-602.
4. Beejmohun V., Fliniaux O., Grand É., Lamblin F., Bensaddek L., Christen P., Kovensky J., Fliniaux M.-A., Mesnard F. (2007). Microwave-assisted extraction of the main phenolic compounds in flaxseed. *Phytochemical Analysis*, 18 (4), 275–282.
5. Carter J.F. (1993). Potential of flaxseed and flaxseed oil in baked goods and other products in human nutrition. *Cereal Foods World*, 38, 10, 753-759.
6. Chandler S.F., Dodds J.H. (1983). The effect of phosphate, nitrogen and sucrose on the production of phenolics and solasodine in callus cultures of *Solanum Laciniatum*. *Plant Cell Reports*, 2, 4, 205-208.
7. Charlet S., Bensaddek L., Raynaud S., Gillet F., Mesnard F., Fliniaux M.A. (2002). An HPLC procedure for the quantification of anhydrosecoisolariciresinol, Application to the evaluation of flax lignan content. *Plant Physiology and Biochemistry*, 40, 225-229.
8. Chen J., Liu X., Shi Y.-P., Ma Ch.-Y. (2007). Determination of the lignans secoisolariciresinol diglucoside from flaxseed (*Linum usitatissimum* L.) by HPLC. *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies*, 30(4), 533-544.
9. Czemplik M., Żuk M., Kulma A., Kuc S., Szopa J. (2011). GM flax as a source of effective antimicrobial compounds. In: Méndez-Vilas A., (Ed.), *Science against microbial pathogens: communicating current research and technological advances*. Formatex Research Center, Badajoz, Spain, 1216-1224.
10. Duncan A.M., Phipps W.R., Kurzer M.S. (2003). Phyto-estrogens. *Best Practice & Research Clinical Endocrinology and Metabolism*, 17, 253-271.
11. Eliasson C., Kamal-Eldin A., Andersson R., Åman P. (2003). High-performance liquid chromatographic analysis of secoisolariciresinol diglucoside and hydroxycinnamic acid glucosides in flaxseed by alkaline extraction. *Journal of Chromatography A*, 1012, 151-159.
12. Fang J., Ramsay A., Paetz C., Tatsis E.C., Renouard S., Hano C., Grand E., Fliniaux O., Roscher A., Mesnard F., Schneider B. (2013). Concentration kinetics of secoisolariciresinol diglucoside and its biosynthetic precursor coniferin in developing flaxseed. *Phytochemical Analysis*, 24, 41-46.
13. FAOSTAT <http://www.fao.org>.
14. Fuentealba C., Figuerola F., Estévez A.M., González-Muñoz A., Muñoz O. (2015). Optimization of secoisolariciresinol diglucoside extraction from flaxseed (*Linum usitatissimum* L.) and isolation by a simple HPLC-UV method. *CyTA - Journal of Food*, 13, 2, 273-281.

15. Gerstenmeyer E., Reimer S., Berghofer E., Schwartz H., Sontag G. (2013). Effect of thermal heating on some lignans in flax seeds, sesame seeds and rye. *Food Chemistry* 138, 1847-1855.
16. Gutierrez C., Rubilar M., Jara C., Vardugo M., Sineiro J., Shene C. (2010). Flaxseed and flaxseed cake as a source of compounds for food industry. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 10 (4), 454-463.
17. Heller K., Wielgusz M., Byczyńska M. (2011). Badania podstawowe i aplikacyjne w zakresie ochrony roślin włóknistych prowadzone w IWNiRZ Poznań. Instytut Włókien Naturalnych i Roślin Zielarskich.
18. Ho C., Cacace J., Mazza G. (2007). Extraction of lignans, proteins and carbohydrates from flaxseed meal with pressurized low polarity water. *LWT - Food Science and Technology*, 40, 1637-1647.
19. Jasińska I., Waszkowiak K., Makowska A., Michniewicz J. (2014). Fitoestrogeny. W: Czapski J. i Górecka D. (red.), *Żywność prozdrowotna: składniki i technologia*. Wydawnictwo Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu, 150-164.
20. Johnsson P., Kamal-Eldin A., Lundgren L.N., Aman P. (2000). HPLC method for analysis of secoisolariciresinol diglucoside in flaxseeds. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 48, 5216-5219.
21. Kahkonen M. P., Hopia A. I., Vuorela H. J., Rauha J.-P., Pihlaja K., Kujala T. S., Heinonen M. (1999). Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds. *Food Chemistry*, 47, 3954-3962.
22. Kozłowski R. (2006). *Poradnik plantatora lnu włóknistego*, Poznań, Instytut Włókien Naturalnych.
23. Landete J.M. (2012). Plant and mammalian lignans: A review of source, intake, metabolism, intestinal bacteria and health. *Food Research International*, 46, 410-424.
24. Mazur W., Adlercreutz H. (2000). Overview of naturally occurring endocrine-active substances in the human diet in relation to human health. *Nutrition*, 16, 654-687.
25. Meagher L.P., Beecher R.G. (2000). Assessment of data on the lignan content of foods. *Journal of Food Composition and Analysis*, 13, 935-947.
26. Mińkowski K., Zawada K., Ptasznik S., Kalinowski A. (2013). Wpływ związków fenolowych nasion na stabilność oksydacyjną i aktywność antyrodnikową wyłoczonych z nich olejów bogatych w PUFA n-3. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 4 (89), 118-132.
27. Moss G.P. (2000). Nomenclature of lignans and neolignans, IUPAC recommendation 2000. *Pure and Applied Chemistry*, 72 (8), 1493-1523.
28. Mueller K., Eisner P., Yoshie- Stark Y., Nakada R., Kirchhoff E. (2010). Functional properties and chemical composition of fractionated brown and yellow linseed meal (*Linum usitatissimum* L.). *Journal of Food Engineering*, 98, 453-460.
29. Popis E., Ratusz K., Przybysz M., Krygier K., Sakowska A., Konarska M. (2015). Światowa oraz polska produkcja lnu oleistego i oleju lnianego. World and Polish production of linseed and linseed oil. *Zeszyty Naukowe Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, Problemy Rolnictwa Światowego*, 15, 2, 106-116.
30. Re R., Pellegrini N., Proteggente A., Pannala A., Yang M., Rice-Evans C. (1999). Antioxidant activity applying an improved abts radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*, 26, 9, 1231-1237.
31. Tian H., Li W.-Y., Xiao D., Li Z.-M., Wang J.-W. (2015). Negative-pressure cavitation extraction of secoisolariciresinol diglycoside from flaxseed cakes. *Molecules* 2015, 20, 11076-11089
32. Touré A., Xueming X. (2010). Flax seed lignans: Source, biosynthesis, metabolism, antioxidant activity, bio-active components, and health benefits. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 9, 261-269.
33. Wanasundara P.K.J.P.D., Shahidi F. (1994). Alkanol ammonia water/hexane extraction of flaxseed. *Food Chemistry*, 49, 39-44.
34. Waszkowiak K., Gliszczyńska-Świgło A., Barthet V., Skręty J. (2015). Effect of extraction method on the phenolic and cyanogenic glucoside profile of flaxseed extracts and their antioxidant capacity. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 92(11-12), 1609-1619.
35. Waszkowiak K. (2013). Lignany – funkcjonalny składnik żywności. *Przemysł Spożywczy*, 67, 34-37.

36. Wiesenborn D., Tostenson K., Kangas K. (2003). Continuous abrasive method for mechanically fractionating flaxseed. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 80, 295-300.
37. Wu Q., Wang M., Simon J.E. (2004). Analytical methods to determine phytoestrogenic compounds. *Journal of Chromatography B*, 812, 325-355.
38. Zając T., Oleksy A., Kulig B., Klimek A. (2010). Uwarunkowania plonowania formy oleistej lnu zwyczajnego (*Linum usitatissimum* L.) oraz jej znaczenie żywieniowe i lecznicze. *Acta Scientiarum Polonorum, Agricultura*, 9 (2), 47-63.

MARIA SIELICKA¹, SYLWIA SADY², ALFRED BŁASZCZYK²,
NATALIA LEWANDOWSKA³, AGNIESZKA ŁOSIEWSKA⁴, MALWINA KULPA⁴

¹Katedra Towaroznawstwa Żywności, Wydział Towaroznawstwa, Uniwersytet Ekonomiczny w Poznaniu

²Katedra Przyrodniczych Podstaw Jakości, Wydział Towaroznawstwa, Uniwersytet Ekonomiczny w Poznaniu

³Studenckie Koło Naukowe NEXUS, Wydział Towaroznawstwa, Uniwersytet Ekonomiczny w Poznaniu

⁴Studenckie Koło Naukowe Towaroznawstwa Żywności SPECTRUM, Wydział Towaroznawstwa,
Uniwersytet Ekonomiczny w Poznaniu

PORÓWNANIE WYBRANYCH WYRÓŻNIKÓW JAKOŚCIOWYCH PASTERYZOWANYCH SOKÓW Z ARONII CZARNOOWOCOWEJ

Streszczenie

Owoce aronii czarnoowocowej stanowią cenne źródło składników bioaktywnych o udokumentowanym pozytywnym wpływie na zdrowie człowieka. Ze względu na niską trwałość oraz niepożądane cechy organoleptyczne owoce aronii poddawane są procesom przetwórczym i najczęściej dostępne są w handlu w formie soków. Celem pracy było porównanie wybranych wyróżników jakościowych dwóch soków pasteryzowanych z aronii czarnoowocowej dostępnych komercyjnie i jednego otrzymanego w warunkach laboratoryjnych oraz określenie siły i kierunku zależności między badanymi wyróżnikami. Badane próbki wykazały zróżnicowaną zawartość związków fenolowych (od 234,8 do 381,5 mg GAE/ 100 ml soku), antocyjanów ogółem (od 3,5 do 89,8 mg C3GE/100 ml soku) oraz zróżnicowane parametry barwy. Wykazano, że sok wytworzony w warunkach laboratoryjnych charakteryzował się najwyższą pożądannością barwy i jednocześnie najwyższą zawartością związków fenolowych, antocyjanów ogółem oraz najwyższym nasyceniem i najniższą jasnością barwy ocenionej instrumentalnie. Stwierdzono bardzo silną dodatnią korelację między zawartością antocyjanów ogółem i zawartością związków fenolowych ($r=0,956$) oraz jednocześnie silną ujemną korelacją z parametrem barwy L^* ($r=-0,896$).

Wprowadzenie

Ze względu na wysoką zawartość cennych żywieniowo składników oraz znaczenie w profilaktyce wielu chorób spowodowanych stresem oksydacyjnym, owoce aronii czarnoowocowej (*Aronia melanocarpa* E.) stanowią cenny surowiec dla przetwórstwa owocowo-warzywnego. Aronia nie jest powszechnie spożywana w stanie surowym z uwagi na mało pożądane cechy organoleptyczne (cierpkość i kwaśność), w związku z czym jest przetwarzana na m.in. soki, dżemy, herbatki owocowe czy wina [Tolić i in., 2015].

Obserwacja oferty na rynku produktów zawierających owoce aronii pozwala zauważyć, że najczęściej wytwarzanymi produktami z tych owoców są soki pasteryzowane. Soki z aronii są dobrym źródłem biologicznie aktywnych związków,

w tym polifenoli o aktywności przeciwutleniającej, które zmiatają wolne rodniki, wiążą metale, działają przeciwzapalnie, przeciwalergicznie, przeciwnowotworowo i przeciwartretycznie [Kullig i Rawel, 2008; Michalak-Majewska i in., 2009]. Szczególną grupę związków polifenolowych w sokach z aronii stanowią antocyjany, które kształtują właściwości sensoryczne produktu [Białek i in., 2012].

W Polsce w 2016 roku konsumpcja soków i nektarów wyniosła 800 mln litrów i wzrosła o 5,7% w stosunku do roku 2015 [European Fruit Juice Association, 2017]. Biorąc pod uwagę dbałość konsumentów o zdrowie, poszukiwanie produktów naturalnych i bez dodatku cukru, soki z owoców aronii mogą stać się interesującą alternatywą dla powszechnie spożywanych soków.

Celem pracy jest porównanie wybranych wyróżników jakościowych soków pasteryzowanych z aronii czarnoowocowej dostępnych komercyjnie i otrzymanych w warunkach laboratoryjnych oraz określenie siły i kierunku zależności między badanymi wyróżnikami.

Materiał i metody badań

Materiał do badań stanowiły trzy 100% soki pasteryzowane tłoczone z owoców aronii czarnoowocowej. Dwa soki zostały zakupione komercyjnie od dwóch różnych producentów i z dwóch różnych partii produkcyjnych (sok A i B), natomiast trzeci sok przygotowano samodzielnie z owoców aronii, które pochodziły z plantacji w Marwicach, z sezonu 2017. Proces tłoczenia soku przeprowadzono w laboratorium w dwóch powtórzeniach (sok L) i poddano pasteryzacji (30 min/85°C).

Zakres badań obejmował konsumencką ocenę sensoryczną, oznaczenie zawartości polifenoli ogółem, oznaczenie zawartości antocyjanów ogółem, pomiar barwy w systemie CIE LAB oraz w systemie L*C*h°. Stężenia dodanego soku do każdego z oznaczeń zostało wyznaczone doświadczalnie i było uzależnione od zawartości oznaczanych związków.

Podczas konsumenckiej oceny określono stopień lubienia barwy, zapachu, klarowności, smaku, posmaku oraz pożądalność ogólną soków z wykorzystaniem 9 - stopniej skali hedonicznej [Baryłko-Piekielna i Matuszewska, 2009; PN-EN ISO 11136:2017], na której 9 oznaczało „wyjątkowo pożądana”, a 1 „wyjątkowo niepożądana”. W badaniach uczestniczyło 30 konsumentów w wieku 17-27 lat. Równoległe przeprowadzono badanie ankietowe wśród tej samej grupy osób. Badanych poproszono o wskazanie surowca, z jakiego zostały wykonane badane soki. Respondentów zapytano, z jakimi cechami kojarzą im się badane soki oraz który z nich został wytfoczony w warunkach laboratoryjnych.

Oznaczenie ogólnej zawartości związków fenolowych przeprowadzono przy użyciu metody kolorymetrycznej [Singleton i Rossi, 1965]. Do kolb miarowych (10

ml) pobrano kolejno: 5 ml wody destylowanej, 0,5 ml odczynnika Folina-Ciocalteu oraz 0,1 ml próbki. Po 3 minutach inkubacji w temperaturze pokojowej do kolb dodano 1,5 ml 20% roztworu węglanu sodu i uzupełniono wodą destylowaną do kreski. Po upływie 2 godzin wykonano pomiar absorbancji przy długości fali 725 nm. Zastosowany odnośnik wykonano analogicznie, dodając zamiast próbki wodę. Zawartość związków fenolowych w sokach wyznaczono na podstawie krzywej wzorcowej jako równoważnik kwasu galusowego w przeliczeniu na 100 ml soku (mg GAE/100 ml soku).

Zawartość antocyjanów ogółem (TAC – ang. Total Anthocyanin Content) oznaczono metodą spektrofotometryczną. Analiza polegała na pomiarze absorbancji przy dwóch długościach fal $\lambda=510$ nm i $\lambda=700$ nm. Przygotowując próbkę do oznaczenia pobrano do dwóch kuwet: 2,7 ml buforu o pH = 1,0 i 0,3 ml próbki oraz 2,7 ml buforu o pH = 4,5 i 0,3 ml próbki. W oparciu o otrzymane wyniki obliczono różnicę absorbancji przy pH = 1,0 i pH = 4,5 według przedstawionego poniżej wzoru [Sanchez-Moreno i in., 2003]:

$$A = (A_{510} - A_{700}) * pH_{1,0} - (A_{510} - A_{700}) * pH_{4,5}$$

Stężenie antocyjanów obliczono według wzoru:

$$TAC = \frac{A * MW * DF * 100}{MA}$$

gdzie,

TAC – całkowita zawartość antocyjanów

A – absorbancja

MW – masa cząsteczkowa cyjanidyno-3-glukozydu (449,2 g/mol)

DF – współczynnik rozcieńczenia

MA – molowy współczynnik absorpcji cyjanidyno-3-glukozydu ($26900 \text{ dm}^3 \text{ mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$)

Wyniki TAC wyrażono w przeliczeniu na mg cyjanidyno-3-glukozydu (C3GE) na 100 ml soku z aronii.

Pomiary spektrofotometryczne przeprowadzono z wykorzystaniem dwuwiązkowego spektrofotometru Jasco V-770 w trzech powtórzeniach dla każdej partii produkcyjnej.

Parametry barwy oznaczono w systemie CIE $L^*a^*b^*$ znormalizowanym przez Międzynarodową Komisję Oświetleniową (CIE) [ISO 11664-4:2008(E)/CIE S 014-4/E:2007] oraz w systemie $L^*C^*h^\circ$. Pomiar parametrów barwy przeprowadzono w zakresie światła widzialnego (VIS) od 250 nm do 850 nm stosując typ obserwatora 10° oraz iluminant D65. Kalibracji aparatu dokonano na dwóch pustych szklanych kuwetach. W celu dokonania oznaczeń parametrów barwy badane soki pobrano do szklanych kuwet pomiarowych (5 μl). W systemie CIE $L^*a^*b^*$ zdefiniowano trzy składowe: L^* , która przyjmuje wartości od 100 (barwa idealnie biała) do 0 (barwa idealnie czarna) i oznacza jasność, natomiast a^* i b^* wyrażają chromatyczność barwy.

Wartość a^* określa odcienie czerwieni ($+a^*$) i zieleni ($-a^*$), zaś wartość b^* przedstawia odcienie żółci ($+b^*$) i niebieskiego ($-b^*$). System $L^*C^*h^\circ$ opiera się również na trzech składowych, gdzie L^* opisuje jasność, C^* określa stopień nasycenia barwy, natomiast parametr h° wyraża kąt tonu barwy ($0-360^\circ$) [Gliszczyńska-Świgło, 2016].

Prezentowane wyniki badań analitycznych stanowią średnią arytmetyczną co najmniej trzech równoległych oznaczeń. Celem porównania wartości średnich przeprowadzono analizę wariancji (ANOVA). Dla zweryfikowania istotności różnic pomiędzy wartościami średnimi zastosowano test Tukey'a, posługując się programem komputerowym Statistica 13.1. W szacowaniu statystycznym za poziom istotności przyjęto $p < 0,05$. Analizę związku korelacyjnego między wyróżnikami dokonano na podstawie współczynnika korelacji liniowej Pearsona.

Wyniki i dyskusja

Wymieszane soki z dwóch partii produkcyjnych oraz z dwóch wyłoczeń w warunkach laboratoryjnych poddano konsumenckiej ocenie sensorycznej. Wyniki oceny pożądalności cząstkowej oraz ogólnej soków przedstawiono w tabeli 1. Analizując otrzymane wyniki zaobserwowano, że najwyższą ocenę pożądalności spośród analizowanych cech odnotowano dla barwy. Sok wykonany w warunkach laboratoryjnych wykazał istotnie wyższą pożądalność tej cechy ($p < 0,05$) w porównaniu do soku handlowego A. Pożądalność zapachu wszystkich soków została oceniona na umiarkowanym, zbliżonym poziomie od 5,2 do 5,5 w skali 9 stopniowej. Nieco wyżej została oceniona klarowność soków. Według Oszmiańskiego [2007] wysoka zawartość antocyjanów i proantocyjanidyn w aronii negatywnie wpływa na klarowności soków. Pożądalność smaku soków wahała się od 4,5 dla próbki soku otrzymanego w warunkach laboratoryjnych, do 5,0 i 5,5 dla soków handlowych, odpowiednio A i B. Stopień lubienia smaku i posmaku był silnie dodatnio skorelowany ($r=0,734$). Posmak badanych soków został uznany za raczej niepożądany (noty od 3,8 dla soku L do 4,7 dla soku B), na co miała wpływ odczuwalna gorzkość, cierpkość i wrażenie chemestetyczne (ściągające). Badania różnych autorów wskazują na potencjalny wpływ związków fenolowych na odczuwaną cierpkość i gorzkość produktów [Robichaud i Noble, 1990; Soares i in., 2013]. Pożądalność ogólna badanych soków kształtowała się na podobnym poziomie od 4,6 do 5,5 kolejno dla soku L, A i B. Spośród badanych cech, stopień lubienia smaku był najsilnie dodatnio skorelowany z pożądalnością ogólną ($r=0,712$).

Podobne wyniki otrzymali Duffy i in. [2016], którzy stwierdzili, że sok z aronii był lubiany tylko przez jedną czwartą badanych z uwagi na niską intensywność smaku słodkiego i wysoką wyczuwalność smaku kwaśnego i nuty

cierpkiej. Zastosowane dodatki - cukier oraz słodki aromat spożywczy (maślan etylu) wykazały potencjał w zwiększeniu akceptowalności soków. Niestety, inne badania [Hartvig i in., 2015] wykazały, że nawet wielokrotne konsumowanie soku z aronii nie powoduje zwiększonej chęci spożycia ani wzrostu stopnia lubienia tego produktu.

Tabela 1. Konsumencka ocena pożądalności soków pasteryzowanych z aronii

Pożądalność	Sok A*	Sok B*	Sok L*
Pożądalność barwy	6,1±1,5 ^a	6,8±1,1 ^{a,b}	7,0±1,5 ^b
Pożądalność zapachu	5,5±1,2 ^a	5,3±1,5 ^a	5,2±2,0 ^a
Pożądalność klarowności	5,7±1,3 ^a	6,1±1,1 ^a	5,9±1,9 ^a
Pożądalność smaku	5,0±1,7 ^a	5,5±1,5 ^a	4,5±2,1 ^a
Pożądalność posmaku	4,5±1,9 ^a	4,7±1,6 ^a	3,8±2,0 ^a
Pożądalność ogólna	5,4±1,4 ^a	5,5±1,3 ^a	4,6±1,7 ^a

Objaśnienia:

*Sok A - sok komercyjny producenta A

*Sok B - sok komercyjny producenta B

*Sok L - sok otrzymany w warunkach laboratoryjnych

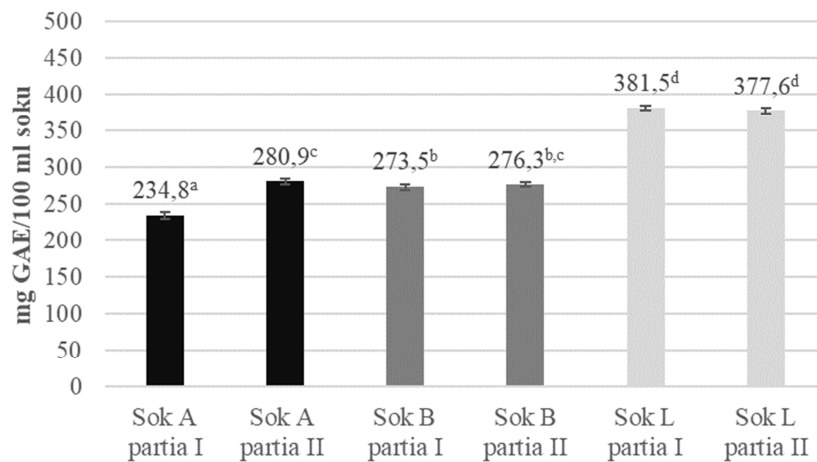
**Wyniki podane jako wartość średnia ± odchylenie standardowe; a, b, c – wartości średnie oznaczone różnymi literami w wierszach różnią się statystycznie istotnie (p<0,05)

Wśród najczęstszych skojarzeń konsumentów ze spożywanym sokami była „kwaśność” i „cierpkość”. Pojawiły się również określenia, takie jak: „naturalność”, „wakacje”, „domowy sok od babci”, „ściągający”. Aż 60% respondentów odpowiedziało, że badane soki są otrzymane z owoców czarnej porzeczki, 30% badanych wskazało aronię, a pozostałe 10% skojarzyło badane próbki z owocami: wiśni, winogron, granatu oraz buraczka ćwikłowego, co potwierdza niską znajomość produktów wytwarzanych z owoców aronii. Blisko połowa zadeklarowała chęć zakupu któregoś z badanych soków. Ponad połowa badanych osób poprawnie wskazała sok otrzymany w warunkach laboratoryjnych.

Spośród badanych soków istotnie najwyższą zawartością związków fenolowych oznaczały się soki otrzymane w skali laboratoryjnej (w zakresie 377,6-381,5 mg GAE na 100 ml soku), a następnie sok producenta A z partii III i soki z obu partii producenta B (rys. 1). Najniższą zawartość związków fenolowych wykazał sok producenta A, z partii I, która wyniosła 234,8 mg GAE na 100 ml soku.

Porównywalną zawartość związków fenolowych w soku pasteryzowanym z aronii otrzymanym laboratoryjnie (386,0 mg GAE/100 g soku) w stosunku do próbki soku L, otrzymanego w analogiczny sposób, wykazali w swoich badaniach Kardum i in. [2015]. Nieznacznie wyższą zawartość związków fenolowych w swoich badaniach

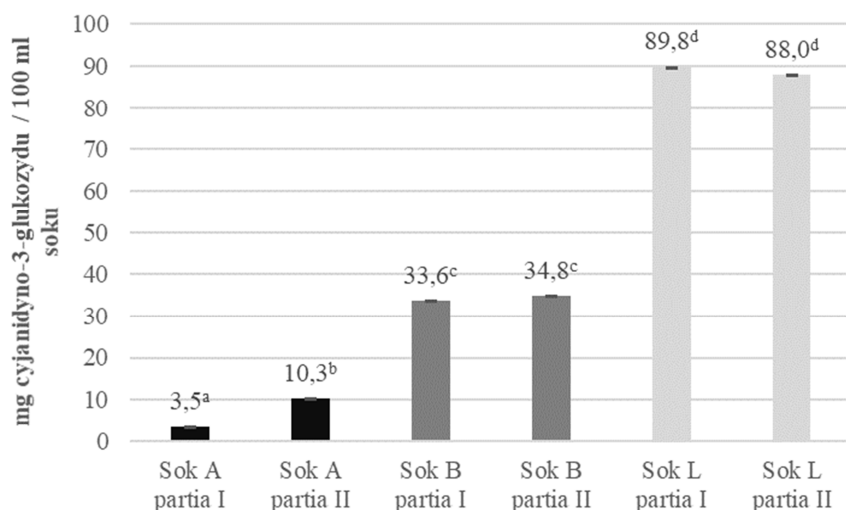
oznaczali Popović i in. [2016], którzy w pasteryzowanym soku otrzymali 400 mg GAE/100 ml soku.



Rys. 1. Zawartość związków fenolowych w sokach pasteryzowanych z aronii
Objaśnienia skrótów zamieszczono pod tabelą 1.

Wśród badanych soków zawartość antocyjanów kształtowała się na poziomie od 3,5 do 89,8 mg C3GE/100 ml soku (rys. 2). Najwyższe stężenie związków antocyjanowych uzyskano dla soków obu partii L, a najniższe dla obu partii soków producenta A. Zawartość antocyjanów w poszczególnych partiach soków B i L nie różniła się istotnie statystycznie. Natomiast w przypadku soku A, stwierdzono różnice między zawartością oznaczanych związków w partii I i II co może świadczyć o zmienności w procesie technologicznym. W pracy Popović i in. [2016] pasteryzowany sok z aronii zawierał 36,9 mg C3GE na 100 ml soku, co zbliżone jest do ogólnej zawartości antocyjanów oznaczonej w sokach producenta B.

Można przypuszczać, że istotnie niższa zawartość antocyjanów w sokach komercyjnych niż w soku otrzymanym w warunkach laboratoryjnych może wynikać z parametrów procesu obróbki termicznej (pasteryzacji) i sposobu przechowywania produktów. Wielkość strat antocyjanów zależy od wysokości stosowanej temperatury oraz różnego czasu przechowywania wyrobów [Oszmiański, 2007a; Kalisz, 2008; Walkowiak-Tomaczak i Czapski, 2012]. Badania Piasek i in. [2011] potwierdzają, że wraz ze wzrostem zarówno czasu obróbki cieplnej, jak i temperatury malała zawartość związków fenolowych i antocyjanów w soku z aronii.



Rys. 2. Zawartość antocyjanów ogółem w sokach pasteryzowanych z aronii
Objaśnienia skrótów zamieszczono pod tabelą 1.

W ocenie jakości soków istotną rolę odgrywa ich barwa, która stanowi jeden z najważniejszych składowych procesu akceptacji produktu. Według Czapskiego i Walkowiak-Tomczak [2008] system CIE $L^*a^*b^*$, jest często stosowany w przemyśle spożywczym ze względu na dużą komunikatywność układu przestrzeni barw z wrażeniem wzrokowym. W tabeli 2 zestawiono parametry barwy dla badanych pasteryzowanych soków. W wyniku przeprowadzonych badań stwierdzono, że najjaśniejszą barwą charakteryzował się sok L z partii pierwszej ($L^*=69,7$) w przypadku którego stwierdzono najniższą zawartość barwników antocyjanowych (rys. 2), co znalazło również odzwierciedlenie w niskiej wartości parametru $a^*=16,6$. Sokiem o najciemniejszej barwie okazał się sok otrzymany w skali laboratoryjnej z pierwszej partii ($L^*=27,7$). Ten sok zawierał najwyższą zawartość antocyjanów (rys. 2). Współrzędna trójchromatyczna b^* o wartościach dodatnich, reprezentująca odcień żółci, była najwyższa dla soku L (partia I) i wyniosła 47,1. Najniższą wartość parametru b^* (9,5) otrzymano dla soku A (partia II). Najwyższe nasycenie barwy (parametr C^*) oznaczono również dla obu partii soku L, natomiast najniższe wartości odnotowano dla soku A (partia I). Wartości parametru h° (kąt tonu barwy) wynosiły od 13,7 do 38,8°, co wskazywało na czerwono-pomarańczowe odcienie barwy analizowanych soków.

Analiza współzależności między oznaczonymi parametrami jakościowymi soków z aronii wskazywała na bardzo silną dodatnią korelację między zawartością

antocyjanów ogółem i zawartością związków fenolowych ($r=0,956$) oraz jednocześnie silną ujemną korelacją z parametrem L^* definowanym jako jasność ($r=-0,896$). Oznacza to, że wraz ze wzrostem zawartości antocyjanów w próbce rośnie zawartość związków fenolowych oznaczanych metodą z odczynnikiem Folina-Ciocalteu i spada jasność próbek.

Tabela 2. Parametry barwy dla soków pasteryzowanych z aronii

Próbka	L^*	a^*	b^*	C^*	h°
Sok A partia I	69,7±0,7 ^f	16,6±0,0 ^a	13,4±0,1 ^b	21,3±0,1 ^a	38,8±0,2 ^f
Sok A partia II	67,3±0,2 ^e	38,8±0,1 ^b	9,5±0,0 ^a	40,0±0,1 ^b	13,7±0,1 ^a
Sok B partia I	42,5±0,1 ^c	62,0±0,0 ^d	23,3±0,1 ^d	66,3±0,0 ^d	20,6±0,1 ^c
Sok B partia II	45,6±0,1 ^d	61,7±0,1 ^d	20,2±0,0 ^c	64,9±0,1 ^c	18,2±0,0 ^b
Sok L partia I	27,7±0,0 ^a	60,3±0,0 ^c	47,1±0,1 ^f	76,5±0,1 ^f	38,0±0,0 ^e
Sok L partia II	38,7±0,4 ^b	62,8±0,4 ^e	41,4±0,2 ^e	75,2±0,4 ^e	33,4±0,1 ^d

Objaśnienia skrótów zamieszczono pod Tabelą 1.

**Wyniki podane jako wartość średnia ± odchylenie standardowe; a, b, c, d, e, f – wartości średnie oznaczone różnymi literami w kolumnach różnią się statystycznie istotnie ($p<0,05$)

Podsumowanie

Przeprowadzone badania pasteryzowanych soków z aronii przedstawiają zróżnicowanie w zakresie badanych cech produktów. Badane soki dostępne komercyjnie charakteryzowały się niższą zawartością związków fenolowych oraz antocyjanów ogółem niż sok wytworzony w warunkach laboratoryjnych, co przełożyło się na wyższą jasność (parametr L^*) i niższe nasycenie barwy (parametr C^*) próbek. Z kolei sensoryczne badania konsumenckie wykazały, że najwyższą pożądannością barwy cechował się sok wytworzony w warunkach laboratoryjnych, który jednocześnie zawierał najwyższą zawartość związków o działaniu przeciwutleniającym, najwyższe nasycenie i najniższą jasność barwy. Ocena pożądanności cech produktów nie wykazała istotnych różnic między poszczególnymi ocenami próbek, jednak zauważalna jest tendencja w stronę wyższego stopnia lubienia smaku, posmaku oraz wyższej pożądanności ogólnej soków dostępnych komercyjnie. Może mieć na to pośredni wpływ niższa zawartość związków fenolowych, która warunkuje niższą gorzkość i cierpkość soków.

Literatura

1. Baryłko-Pikielna N., Matuszewska I. (2009). Sensoryczne badania żywności. Wyd. Naukowe PTTŻ, Kraków.
2. Białek M., Rutkowska J., Hallman E. (2012). Aronia czarnoowocowa (*Aronia melanocarpa*) jako potencjalny składnik żywności funkcjonalnej. Żywność. Nauka. Technologia. Jakość, 6(85), 21-30.

3. Czapski J., Walkowiak-Tomczak D. (2008). Kinetyka zmian barwy antocyjanów w czasie ogrzewania roztworów barwników z aronii, czerwonych winogron i czarnego bzu. *Acta Agrophysica*, 12(3), 625-636.
4. Duffy V.B., Rawal S., Park J., Brand M.H., Sharafi M., Bolling B.W. (2016). Characterizing and improving the sensory and hedonic responses to polyphenol-rich aronia berry juice. *Appetite*, 107, 116-125.
5. European Fruit Juice Association, Market Report. (2017), 13.
6. Gliszczyńska-Świątło A. (2016). Badanie barwy, w: Wybrane instrumentalne metody analizy wyrobów i procesów, Materiały do ćwiczeń (red. A. Gliszczyńska-Świątło, E. Sikorska). Wyd. Uniwersytetu Ekonomicznego w Poznaniu, Poznań, 71-84.
7. Hartvig D.L., Hausner H., Wendin K., Ritz C., Bredie W.L.P. (2015). Initial liking influences the development of acceptance learning across repeated exposure to fruit juices in 9–11 year-old children. *Food Quality and Preference*, 39, 228-235.
8. ISO 11664-4:2008(E)/CIE S 014-4/E:2007, Colorimetry - Part 4: CIE 1976 L*a*b* Colour space.
9. Kalisz S. (2008). Wpływ sposobu otrzymywania soków truskawkowych na zawartość antocyjanów i barwę. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 5(60), 149-160.
10. Kardum N., Milovanovic B., Savikin K., Zdunic G., Mutavdzin S., Gligorijevic T., Spasic S. (2015). Beneficial effects of polyphenol-rich chokeberry juice consumption on blood pressure level and lipid status in hypertensive subjects. *Journal of Medicinal Food*, 00 (0), 1-8.
11. Kulling S.E., Rawel H.M. (2008). Chokeberry (*Aronia melanocarpa*) - a review on the characteristic components and potential health effects. *Planta Medica*, 74, 1625–1634.
12. Michalak-Majewska M., Żukiewicz-Sobczak W., Kalbarczyk J. (2009). Ocena składu i właściwości soków owocowych. *Bromatologia i Chemia Toksykologiczna*, 42(3), 836-841.
13. Oszmiański J. (2007). Soki owocowe o wysokiej aktywności biologicznej. *Przemysł Fermentacyjny i Owocowo-Warzywny*, 4, 12-15.
14. Oszmiański J. (2007a). Wpływ obróbki technologicznej na zawartość przeciwutleniaczy w produktach spożywczych, w: *Przeciwutleniacze w żywności* (red. W. Grajek). Wyd. Naukowo-Techniczne, Warszawa, 441-452.
15. Piasek A., Kusznierevich, Grzybowska I., Malinowska-Pańczyk E., Piekarska A., Azqueta A., Collins A.R., Namieśnik J., Bartoszek A. (2011). The influence of sterilization with EnbioJet1 Microwave Flow Pasteurizer on composition and bioactivity of aronia and blue-berried honeysuckle juices. *Journal of Food Composition and Analysis*, 24(6), 880–888.
16. PN-EN ISO 11136:2017. Analiza sensoryczna - Metodyka - Ogólne wytyczne przeprowadzania testów hedonicznych z konsumentami na obszarze kontrolowanym.
17. Popović K., Pozderović A., Jakobek L., Rukavina J., Pichler A. (2016). Concentration of chokeberry (*Aronia melanocarpa*) juice by nanofiltration. *Journal of Food and Nutrition Research*, 55, 2, 159-170.
18. Robichaud J.L., Noble A.C., (1990). Astringency and bitterness of selected phenolics in wine. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 53(3), 343-353.
19. Sanchez-Moreno C., Cao G., Ou B., Prior R.L. (2003). Anthocyanin and proanthocyanidin content in selected white and red wines. Oxygen radical absorbance capacity comparison with nontraditional wines obtained from highbush blueberry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51, 4889-4896.
20. Singleton V.L., Rossi J.A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, 16, 144-158.
21. Soares S., Kohl S., Thalmann S., Mateus N., Meyerhof W., De Freitas V. (2013). Different phenolic compounds activate distinct human bitter taste receptors. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61(7), 1525-1533.
22. Tolić M.T., Jurčević I.L., Krbavčić I.P., Marković K. Vahčić N. (2015). Antioxidant properties of chokeberry products. *Food Technology & Biotechnology*, 53 (2) 171-179.
23. Walkowiak-Tomczak D., Czapski J. (2012). Instrumentalna i sensoryczna ocena barwy roztworów koncentratu soku z czarnej porzeczki podczas przechowywania. *Aparatura Badawcza i Dydaktyczna*, 2, 53-60.

MAŁGORZATA TABASZEWSKA¹

¹*Katedra Technologii Owoców, Warzyw i Grzybów, Wydział Technologii Żywności,
Uniwersytet Rolniczy im. H. Kołłątaja w Krakowie*

**OCENA WYBRANYCH WŁAŚCIWOŚCI PROZDROWOTNYCH
KONFITUR Z BORÓWKI BRUSZNICY**

Streszczenie

Borówka brusznica należy do rodziny wrzosowatych, jest rośliną cenioną m.in. ze względu na dużą zawartość związków bioaktywnych. Celem niniejszej pracy była ocena wybranych właściwości prozdrowotnych konfitur z borówki brusznicy, zakupionych na rynku od trzech producentów.

Konfitura z borówki brusznicy Producenta X charakteryzowała się najmniejszą zawartością oznaczanych związków bioaktywnych, za wyjątkiem zawartości antocyjanów ogółem oraz witaminy C. Z kolei największą ilość oznaczanych związków cechowała się konfitura od Producenta Z, za wyjątkiem zawartości polifenoli ogółem, w tym fenylopropanoidów, flawonoli oraz kwasu L-dehydroaskorbinowego.

Słowa kluczowe: borówka brusznica, konfitura, związki prozdrowotne

Wstęp

Borówka brusznica (*Vaccinium vitis-idea* L.) należy do rodziny wrzosowatych (*Ericaceae*), znana była również m.in. pod nazwami: borówka czerwona, borówka kamionecka, czerwienica, brusznica, kamionka, brzuszesznik, gogodza, żurawina, borówka jesienna, bruska, kwaśnica [Wierzbicka, 2012]. Roślina ta (Rysunek 1), jest to niewielka krzewinka [Senderski, 2016], wiecznie zielona osiagająca wielkość 15-60 cm, słabo rozkrzewiająca się. Posiada skórzaste, nie opadające na zimę liście o kształcie odwrotnie jajowatym lub owalnym, ciemnozielone, lekko karbowane, nagie, błyszczące, podwinięte przy brzegach liściowych, z widocznymi od spodu gruczołami w postaci kropek. Osiągają one wielkość do 2 cm. Kwiaty są drobne, białawe lub różowawe w kształcie dzwinkowatym zebrane na końcu gałązek w postaci gron. Pierwszy raz kwitnie ona od maja do lipca, a drugi raz kwitnie w południowo-zachodniej i południowej części Polski jesienią, we wrześniu i październiku. Owocuje w postaci początkowo białej zielonej jagody z czasem dojrzewania czerwieniejącej i twardniejącej, dojrzałe jagody we wnętrzu pozostają białawe. Pierwsze owoce dojrzewają od maja do lipca, drugie natomiast od września do października. Owoce jesienne są mniejsze, intensywniej wybarwione [Landolt, 1996; Szwendler i Sobkowiak, 1998; Bielowski, 2008; Woziwoda, 2014].



Rysunek 1. Borówka brusznica z kwiatami i owocami (zdjęcie własne)

Borówka brusznica w stanie naturalnym rozpowszechniona jest w klimacie umiarkowanym Ameryki Północnej, Europy i Azji, rosnąc na nasłonecznionym terenie najczęściej tworzy duże skupiska. W Polsce można ją spotkać na całym obszarze jednak najobficiej w suchych lasach iglastych, młodych, dobrze doświetlonych borach, w zaroślach, na połoninach, i wrzosowiskach [Senderski, 2016].

Surowcem zielarskim są zarówno owoce (*Vitis idaeae fructus*) jak i liście (*Vitis idaeae folium*). Owoce zbiera się w pełni wybarwione, dojrzałe, a liście wiosną lub jesienią. Ścina się całe gałązki dobrze ulistnione, ze zdrowymi, intensywnie wybarwionymi listkami. Następnie liście obrywa się z gałązek i przekazuje do suszenia [Senderski, 2016].

Owoce borówki brusznicy zawierają cukry, kwasy organiczne, pektyny, antocyjany, garbniki, sole mineralne, prowitaminę A. Z kolei liście zasobne są w garbniki katechinowe, glikozydy fenolowe (w tym m.in. wolny hydrochinon, arbutyna, metyloarbutyna), kwasy organiczne (cytrynowy, jabłkowy, octowy), triterpeny (kwas ursolowy), flawonoidy (hiperozyd, pochodne kwercetyny), sole mineralne, witaminy (C, B₁, B₂, PP) [Senderski, 2016].

Owoce borówki korzystnie wpływają na pracę układu trawiennego. Liście wykazują działanie moczopędne, odkażające na układ moczowy, przeciwzapalne, przeciwbakteryjne, ściągające na śluzówkę przewodu pokarmowego, wzmacniające naczynia krwionośne przewodu pokarmowego. Ponadto wyciąg z liści ma zastosowanie w chorobach reumatycznych [Senderski, 2016], z kolei napary mogą wiązać toksyny bakteryjne [Pisulewska i in., 2015]. Ponadto wykazują działanie przeciwwirusowe, zwłaszcza przeciw wirusowi zapalenia wątroby typu C, obniżające poziom cholesterolu w surowicy krwi [Vyas i in., 2015].

Z owoców najczęściej przyrządza się konfitury, galaretki, soki, kompoty, sosy, dżemy i nalewki. Ze względu na charakterystyczny kwaśno-cierpki smak doskonale komponują się z potrawami mięsnymi, w tym z dziczyzną [Pisulewska i in., 2015].

Materiał i metody

Materiał

Materiał badawczy stanowiły konfitury do mięs zakupione na rynku od trzech producentów (X, Y i Z). Skład produktów podano w Tabeli 1.

Tabela 1. Skład analizowanych produktów

Składnik	Producent X	Producent Y	Producent Z
Owoce borówki brusznicy	50 g/ 100 g produktu	50 g/ 100 g produktu	49 g/ 100 g produktu
Cukier	41 g/ 100 g produktu	x	x
Syrop glukozowo-fruktozowy			x
Woda		x	x
Pektyny	x	x	
Guma guar	x		
Guma ksantanowa	x		
Skrobia modyfikowana		x	
Kwas cytrynowy		x	x
Kwas askorbinowy			x
Aromat borówki			x
Koncentrat z czarnej marchwi			x
Acetylowany adypinian diskrobiowy			x

Producenci zadeklarowali następującą wartość odżywczą produktów (Tabela 2).

Tabela 2. Wartość odżywcza konfitur z borówki brusznicy w 100 g

Składnik	Producent X	Producent Y	Producent Z
Wartość energetyczna [kJ/kcal]	731/ 172	638/ 150	508/ 120
Węglowodany [g]:	41	37	29
w tym cukry [g]	35		24
Tłuszcze [g]:	0,3	0,1	0
w tym kwasy tłuszczowe nasycone [g]	0		0
Białko [g]	0,4	0,3	0
Sól [g]	0		0,01

Produkty po zakupieniu były składowane zgodnie z zaleceniami producenta (w suchym i chłodnym miejscu). Hermetyczne opakowania zostały otwarte bezpośrednio przed analizami.

Metody

Przygotowanie produktów do analiz zawartości związków prozdrowotnych oznaczanych metodami spektrofotometrycznymi

Zawartość opakowań jednostkowych dokładnie wymieszano w celu przygotowania jednorodnej próby, następnie zhomogenizowano z 80% alkoholem etylowym przy użyciu homogenizatora DI 25 basic (Ika Werke, Niemcy), 18000 obr./min przez 120 s, następnie próby odwirowano przy użyciu wirówki laboratoryjnej MPW-260R (Polska), 4500 obr./min przez 20 min. Supernatant przefiltrowano przez filtr bibułowy o średniej grubości do kolby miarowej i uzupełniono 80% alkoholem etylowym do znanej objętości i wykorzystano do analiz z użyciem spektrofotometru Hitachi U-2900 UV-VIS (Japonia).

Oznaczenie suchej masy, kwasowości potencjalnej i czynnej

Zawartość suchej masy oznaczono metodą wagową zgodnie z Polską Normą [PN-EN 12145:2001]. Kwasowość potencjalną oznaczono metodą potencjometryczną zgodnie z Polską Normą [PN-71/A-75101/04]. Natomiast kwasowość czynną oznaczono metodą elektrometryczną przy użyciu pehametru –Metrohm (Szwajcaria) zgodnie z Polską Normą [PN-90/A-75101/06].

Zawartość związków prozdrowotnych oznaczana metodami spektrofotometrycznymi

Polifenole ogółem oznaczono metodą z odczynnikiem Folina-Ciocalteu [Singleton i in., 1999], zawartość flawonoidów ogółem oznaczono metodą opisaną przez Zhishen i in. [1999] oraz Ardestani i Yazdanparast [2007]. Ogólną zawartość fenylopropanoidów, flawonoli i antocyjanów oznaczono za pomocą zmodyfikowanej metody opisanej przez Fakumoto i Mazza [2000]. Aktywności przeciwutleniające oznaczono metodami z użyciem wolnego rodnika DPPH (1,1-diphenylo-2-picrylhydrazal) metodą opisaną przez Brand-Williamsa i in. [1995] oraz wolnego rodnika ABTS (2,2'-*anizo-bis* (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) metodą opisaną przez Re i in. [1999]. Natomiast zdolność redukcji jonów żelaza oznaczono metodą opisaną przez Benzie i Strain [1996].

Zawartość związków prozdrowotnych oznaczana metodami chromatograficznymi

Analizy chromatograficzne przeprowadzono na zestawie HPLC Dionex UltiMate 3000 z detektorem DAD Thermo Scientific (Niemcy)

Zawartość kwasu L-askorbinowego oraz kwasu L-dehydroaskorbinowego oznaczono zgodnie z PN-EN 14130:2003. Zastosowano kolumnę Velocity C₁₈ PLMX 250 x 4,6 mm,

5 µm firmy Bionacom LTD (Wielka Brytania) wraz z prekolumną tej samej firmy Velocity C₁₈ PLMX, 3,0-4,6 mm, 5 µm (Wielka Brytania).

Próby do oznaczenia profilu polifenoli wykonano według metody opisanej przez Klimczak i in. [2007] z modyfikacją własną. Zastosowano kolumnę Cosmosil 5C₁₈ – MS - II 250 x 4,6 mm ID, 5 µm firmy Nacalai Tesque, INC. (Japonia).

Analiza statystyczna

Badane produkty analizowano w czterech powtórzenia ($n=4$). Uzyskane wyniki poddano statystycznej analizie danych z użyciem programu komputerowego STATISTICA 13.1 i wyrażono jako średnia±błąd standardowy. Zastosowano jednoczynnikową analizę wariancji. Istotność różnic między wartościami średnimi określono testem Duncana przy $P < 0,05$.

Wyniki i dyskusja

Konfitury z borówki brusznicy znane i cenione były przez wiele lat głównie za walory sensoryczne. Oprócz walorów sensorycznych produkty te cechują się bogactwem różnych związków o działaniu prozdrowotnym.

Na zawartość suchej masy składają się głównie węglowodany, białka i tłuszcze. Analizując deklarowaną przez producentów wartość odżywczą (Tabela 2) można zaobserwować podobną tendencję w oznaczonej suchej masie (Tabela 3), najbardziej zbliżony do deklaracji producenta był produkt Producenta Z. Na kwasowość produktów oprócz naturalnych kwasów występujących w surowcu (m.in. kwas cytrynowy, kwas jabłkowy [Laslo i Köbölkuti, 2017], kwas benzoowy 55 mg/100 g świeżych owoców [Roman, 2014]), wpłynęły kwasy dodane podczas procesu technologicznego. Zawartość wsadu owocowego w analizowanych produktach była na podobnym poziomie (Tabela 1) jednak w procesie produkcji Producent Y zadeklarował dodanie kwasu cytrynowego, a z kolei Producent Y oprócz kwasu cytrynowego zadeklarował również dodatek kwasu askorbinowego. Występowanie tych składników można zaobserwować w wynikach analizy chemicznej (Tabela 3). Kwasowość ogólna w przeliczeniu na kwas cytrynowy samych owoców borówki brusznicy różnych odmian mieściła się w granicach 1,84-2,73 g/100 g owoców [Lee i Finn, 2012]. Wartość ta jest nieznacznie mniejsza, w porównaniu do uzyskanej w niniejszych badaniach dla produktu Producenta X, który nie deklarował dodatku kwasów syntetycznych, a owoce borówki brusznicy stanowiły 51 g/100 g produktu (Tabela 1). Na kwasowość czynną mają wpływ głównie występujące w produkcji jony hydroniowe. Wyniki kwasowości czynnej uzyskane w niniejszym doświadczeniu dla konfitur były podobne jak otrzymane przez Lee i Finn [2012] dla samego surowca odmian Ida, Koralle, Linnea, Sanna i Sussi. Wartość pH jagód tych odmian mieściła się w zakresie 2,74-2,90.

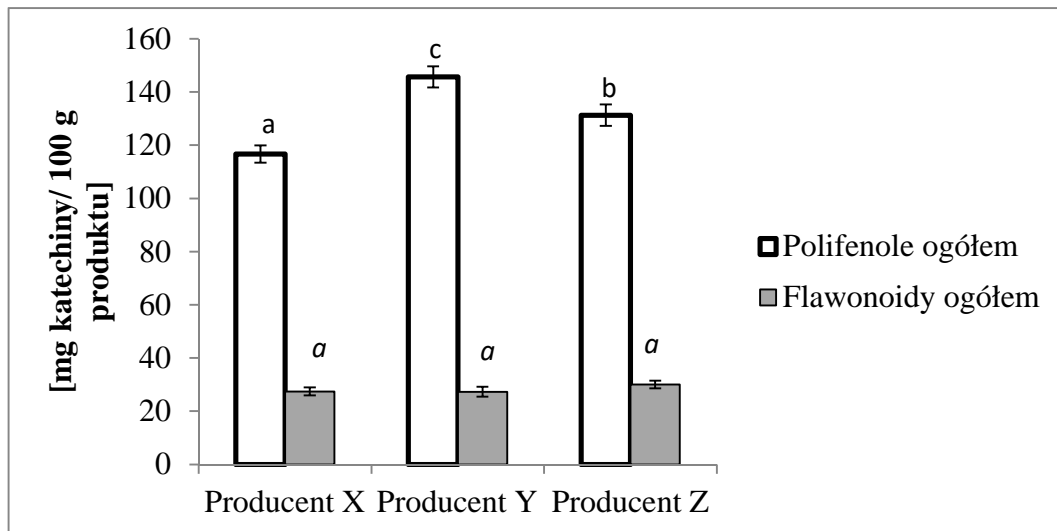
Tabela 3. Zawartość suchej masy oraz kwasowość produktów (średnia±SE)

Badany parametr	Produkt X	Produkt Y	Produkt Z
Sucha masa [g/100 g]	44,09±0,20 ^c	41,61±0,17 ^b	31,61±0,10 ^a
Kwasowość [g kwasu cytrynowego/100 g]	0,72±0,01 ^a	0,87±0,03 ^b	1,00±0,01 ^c
pH	2,96±0,07 ^b	2,75±0,00 ^a	2,89±0,01 ^{ab}

Te same litery w wierszach oznaczają brak różnic przy $P < 0,05$

Zarówno świeże owoce jak i produkty z nich wytworzone są dobrym źródłem składników odżywczych i bioaktywnych, w tym witamin, polifenoli, składników mineralnych i wielu innych wykazujących korzystne oddziaływanie na organizm człowieka [Dróżdż i in., 2018]. W owocach borówki brusznicy występują takie związki fenolowe jak, m.in. flawonoidy, kwasy fenolowe, antocyjany, procyjanidyny [Lätti i in., 2011]. Zawartość polifenoli ogółem kształtowała się od 117 – 146 mg katechiny/100 g konfitur, a różnice w zawartości polifenoli ogółem między poszczególnymi produktami były istotne (Wykres 1), przy podobnym wsadzie surowcowym. Owoce dziko rosnącej borówki brusznicy zebrane jesienią w kilku różnych miejscach Polski charakteryzowały się zawartością polifenoli ogółem na poziomie średnio 526 mg kwasu galusowego/100 g surowca [Dróżdż i in., 2017]. Podobną zawartość polifenoli ogółem (566 mg kwasu galusowego/100 g surowca) odnotowali w swoich badaniach Lee i Finn [2012] badający kilka odmian owoców borówki brusznicy.

Zawartość flawonoidów ogółem w analizowanych produktach kształtowała się na podobnym poziomie (ok. 30 mg katechiny/100 g produktu) (Wykres 1). W owocach borówki brusznicy Su [2012] zidentyfikował następujące flawonoidy: kemferol, kwercetynę, mirycetynę, kwercetyno-3-*O*-glukozyd, kwercetyno-3-*O*-glukuronid, kwercetyno-3-*O*-ramnozyd, kwercetyno-3-*O*-arabinozyd, kwercetyno-3-*O*-ksylozyd, izoramnetyno-3-*O*-glukozyd, mirycetyno-3-*O*-glukozyd, kemferolo-3-*O*-glukozyd, avicularin.



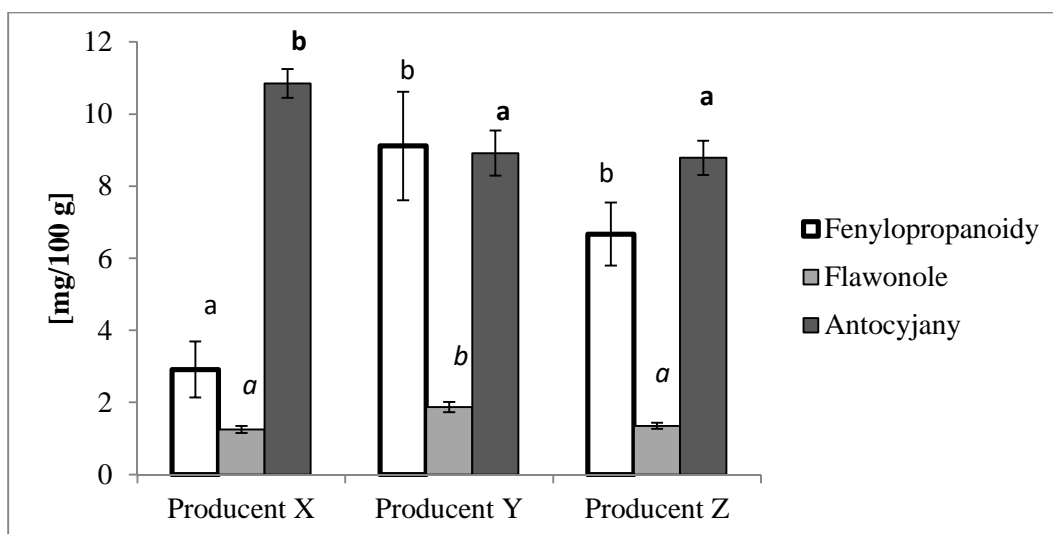
Wykres 1. Zawartość polifenoli ogółem i *flawonoidów ogółem* w konfiturach z borówki brusznicy, średnia±SE. Te same litery przy tych samych związkach (ten sam format liter) oznaczają brak różnic przy $P < 0,05$.

Zawartość fenylopropanoidów (Wykres 2) była zróżnicowana w analizowanych produktach mimo podobnego ilościowo wsadu surowcowego (Tabela 1). Najmniejszą ilość tych związków oznaczono w produkcie Producenta X.

Flawonole są podgrupą flawonoidów, będące pochodną flawanolu. W badanych produktach zawartość tych związków była poniżej 2 mg/100 g wyrobu gotowego (Wykres 2). Produkty Producentów X i Z charakteryzowały się podobną zawartością tych związków. W owocach borówki brusznicy najczęściej występują takie flawanole jak: kwercetyna, mirycetyna i izoramnetyna [Su, 2017].

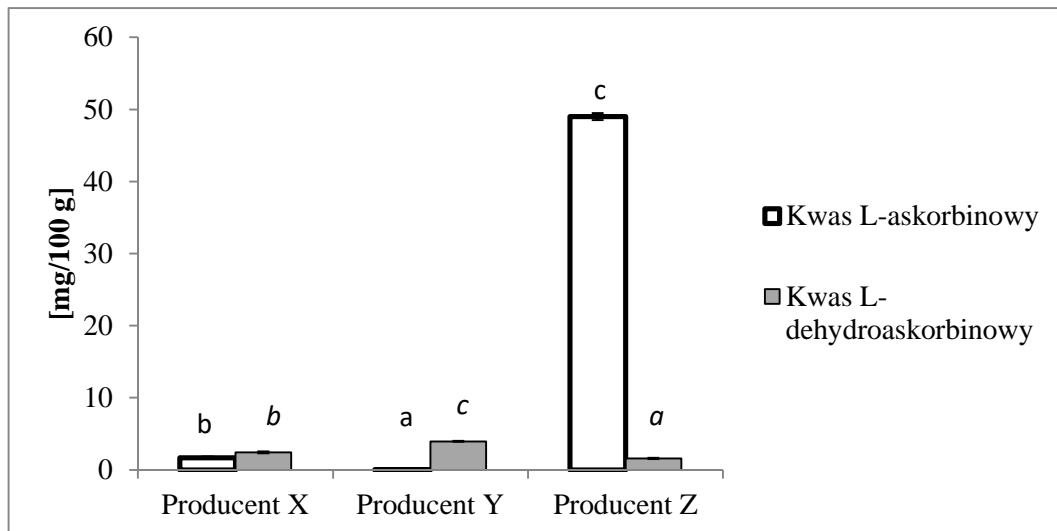
Antocyjany zaliczane są do związków fenolowych. Należą do ważnych pigmentów roślinnych widocznych dla ludzkiego oka [Su, 2012]. W analizowanych produktach antocyjany kształtowały się na poziomie ok. 10 mg cyjanidyny/100 g produktu (Wykres 2). Największa ich ilość oznaczona została w produkcie Producenta X i różniła się istotnie od zawartości antocyjanów w pozostałych produktach mimo, iż wsad surowcowy w konfiturach był podobny. Różnice mogły wynikać z różnego stopnia dojrzałości owoców, czy też rozłożenia większej ilości antocyjanów podczas procesu technologicznego. Lee i Finn [2012] w badaniach dotyczących m.in. zawartości antocyjanów w jagodach borówki brusznicy różnych odmian, zidentyfikowali następujące antocyjany: cyjanidyno-3-galaktozyd, cyjanidyno-3-glukozyd i cyjanidyno-3-arabinozyd. Autorzy ci określili średnią zawartość antocyjanów ogółem w jagodach na poziomie 24 mg cyjanidyno-3-glukozydu czyli nieznacznie więcej niż w niniejszych badaniach zważywszy, że wsad surowcowy w analizowanych produktach stanowił ok. 50%. Z kolei

Borowska i Mazur [2008] badający również jagody borówki brusznicy różnych odmian oznaczyli antocyjany na poziomie ok. 70 mg cyjanidyno-3-glukozydu/100 g surowca.



Wykres 2. Zawartość fenylopropanoidów (mg kwasu kawowego), flawonoli (*mg kwercetyny*) i antocyjanów (mg cyjanidyny) w konfiturach z borówki brusznicy, średnia±SE. Te same litery przy tych samych związkach (ten sam format liter) oznaczają brak różnic przy $P<0,05$.

Zawartość kwasu *L*-askorbinowego (Wykres 3) w produkcie Producenta Y była poniżej 1 mg/100 g produktu. W produkcie Producenta X było ok. 2 mg kwasu *L*-askorbinowego w 100 g produktu. Natomiast w produkcie Producenta Z zawartość tego kwasu była na poziomie ok. 50 mg/ 100 g produktu, co zgodne jest z deklaracją producenta o dodaniu tego przeciwutleniacza w procesie produkcji (Tabela 1). Z kolei zawartość kwasu *L*-dehydroaskorbinowego najmniejsza była w produkcie Producenta Z, a największa w produkcie producenta Y. Podobne wyniki uzyskali dla owoców borówki brusznicy Brown i in. [2012] otrzymując wynik ok. 50 µg/g surowca.



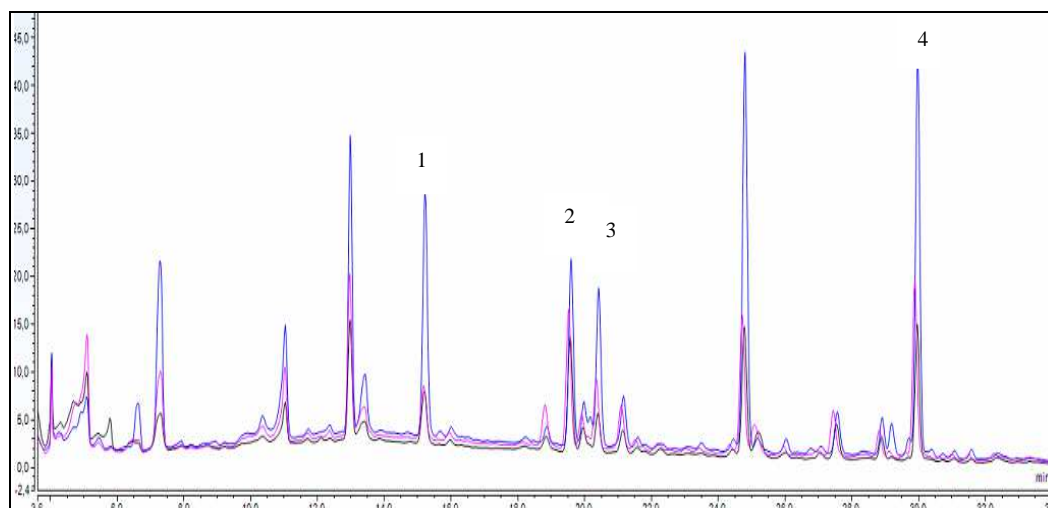
Wykres 3. Zawartość kwasu *L*-askorbinowego oraz *L*-dehydroaskorbinowego w konfiturach z borówki brusznicy, średnia±SE. Te same litery przy tych samych związkach (ten sam format liter) oznaczają brak różnic przy $P < 0,05$.

Polifenole stanowią dużą grupę związków o różnorodnych właściwościach. W owocach borówki brusznicy Beaulieu [2010] zidentyfikowali następujące polifenole: katechinę, pochodną kwasu *p*-kumarowego, kwas *p*-kumarowy, cyjanidyno-3-*O*-galaktozyd, cyjanidyno-3-*O*-arabinozyd, kwercetynę oraz kwercetyno-3-*O*-galaktozyd. Zidentyfikowane w niniejszych badaniach polifenole (Tabela 4, Rysunek 2) są podobne do oznaczonych przez Su [2007] oraz Häkkinen i in. [1999].

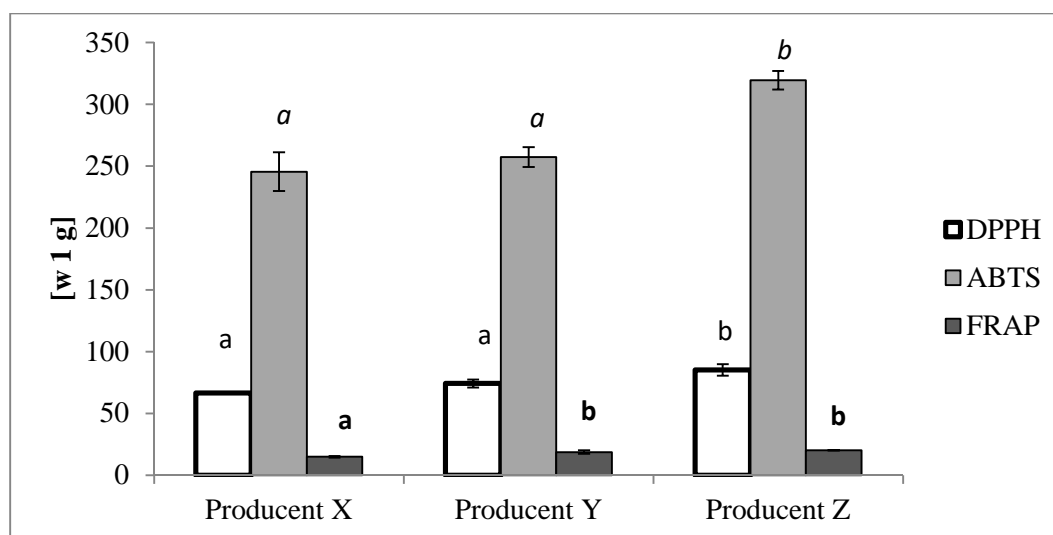
Tabela 4. Zawartość poszczególnych polifenoli [mg/100 g] produktu, średnia±SE

Polifenole	Produkt X	Produkt Y	Produkt Z
Kwas ferulowy	0,01±0,00 ^a	0,02±0,00 ^b	0,04±0,00 ^c
Kwas <i>p</i> -kumarowy	0,026±0,00 ^a	0,030±0,00 ^b	0,037±0,00 ^c
Kwas kawowy	0,02±0,00 ^a	0,02±0,00 ^a	0,07±0,00 ^b
Mirycetyna	0,040±0,00 ^a	0,043±0,00 ^a	0,044±0,00 ^a
Kwas <i>t</i> -cynamonowy	0,02±0,00 ^a	0,03±0,00 ^b	0,040±0,00 ^c
Kwas protokatechowy	0,066±0,00 ^a	0,09±0,00 ^c	0,075±0,00 ^b

Te same litery w wierszach oznaczają brak różnic przy $P < 0,05$



Rysunek 2. Chromatogram przedstawiający profil polifenoli przy długości fali 320 nm, brązowy – Producent X, różowy – Producent Y, niebieski – Producent Z. 1 – kwas kawowy, 2 – kwas *p* – kumarowy, 3 – kwas ferulowy, 4 – kwas *t*-cynamonowy.



Wykres 4. Aktywność przeciwutleniająca względem rodnika DPPH i *ABTS* [μM Troloxu/g] oraz zdolność redukcji jonów żelaza (**FRAP**) [μM Fe^{2+} /g] konfitur z borówki brusznicy, średnia \pm SE. Te same litery dla określonych związków (ten sam format litr) oznaczają brak różnic przy $P < 0,05$.

Aktywność przeciwutleniającą można określić różnymi metodami, z zastosowaniem różnych rodników. Aktywność przeciwutleniająca względem rodnika DPPH kształtowała się na poziomie ok. 75 μM Troloxu/ g produktu (Wykres 4) i była podobna do wyników

otrzymanych przez Borowską i Mazura [2008] badających owoce borówki brusznicy różnych odmian. Z kolei Finn i in. [2011] uzyskali ponad pięciokrotnie niższą aktywność przeciwutleniającą, względem rodnika ABTS dla świeżych owoców borówki brusznicy, niż wyniki otrzymane w niniejszych badaniach. Większa aktywność przeciwutleniająca w analizowanych produktach mimo, iż surowiec (owoce borówki brusznicy) stanowił ok. 50%, mogła być spowodowana znaczącym wpływem pozostałych składników wchodzących w skład wyrobów.

Zdolność redukcji jonów żelaza w analizowanych produktach kształtowała się średnio na poziomie 18 $\mu\text{M Fe}^{2+}/\text{g}$ produktu (Wykres 4) i była podobna do wyników otrzymanych przez Witkowską i Zujko [2009], którzy dla świeżych owoców borówki brusznicy otrzymali wynik poniżej 40 $\mu\text{M Fe}^{2+}/\text{g}$ surowca.

Podsumowanie

W konfiturach z owoców borówki brusznicy oznaczono znaczną ilość związków bioaktywnych. Konfitura z borówki brusznicy Producenta X charakteryzowała się najmniejszą zawartością oznaczanych związków prozdrowotnych, za wyjątkiem zawartości antocyjanów oraz witaminy C. Z kolei największą ilością oznaczanych związków cechował się produkt Producenta Z, za wyjątkiem zawartości polifenoli ogółem, w tym fenylopropanoidów, flawonoli oraz kwasu *L*-dehydroaskorbinowego i protokatechowego. W konfiturach zidentyfikowano następujące związki polifenolowe: kwas ferulowy, *p*-kumarowy, kawowy, *t*-cynamonowy, protokatechowy oraz mirycetynę.

Literatura

1. Ardestani A., Yazdanparast R. (2007). Antioxidant and free radical scavenging potential of *Achillea santolina* extracts. Food Chemistry, 104, 1041-1047.
2. Beaulieu L.P., Harris C.S., Saleem A., Cuerrier A., Haddad P.S., Martineau L.C., Bennett S.A.L., Arnason J.T. (2010). Inhibitory effect of the cree traditional medicine wiishichimanaanh (*Vaccinium vitis-idaea*) on advanced glycation endproduct formation: identification of active principles. Phytotherapy Research, 24(5), 741-747.
3. Benzie I.F.F., Strain J.J. (1996). The ferric reducing ability of plasam (FRAP) as a measure of „antioxidant power”: the FRAP assay. Analytical Biochemistry, 239, 70-76.
4. Bielowski A. (2008). Przyprawy, które leczą. Wydawnictwo Diecezjalne i Drukarnia w Sandomierzu.
5. Borowska E.J., Mazur B. (2008). Zmiany wybranych składników i właściwości antyoksydacyjnych borówki brusznicy w procesie otrzymywania przecierów. Bromatologia i Chemia Toksykologiczna, 41(3), 303-307.
6. Brand - Williams W., Cuvelier M.E., Berset C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. LWT – Food Science and Technology, 28 (1), 25-30.
7. Brown P.N., Turi C.E., Shipley P.R., Murch S.J. (2012). Comparisons of large (*Vaccinium macrocarpon* Ait.) and small (*Vaccinium oxycoccos* L., *Vaccinium vitis-idaea* L.) cranberry in British Columbia by phytochemical determination, antioxidant potential, and metabolomic profiling with chemometric analysis. Planta Medica, 78(06), 630-640.
8. Dróždź P., Šežienė V., Wójcik J., Pyrżyńska K. (2017). Evaluation of bioactive compounds, minerals and antioxidant activity of lingonberry (*Vaccinium vitis-idaea* L.) fruits. Molecules, 23(1), 53.

9. Fakumoto L., Mazza G. (2000). Assessing antioxidant and prooxidant activities of phenolic compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48 (8), 3597-3604.
10. Fan Z.L., Wang Z.Y., Liu J.R. (2011). Cold-field fruit extracts exert different antioxidant and antiproliferative activities in vitro. *Food Chemistry*, 129(2), 402-407.
11. Häkkinen S., Heinonen M., Kärenlampi S., Mykkänen H., Ruuskanen J., Törrönen R. (1999). Screening of selected flavonoids and phenolic acids in 19 berries. *Food Research International*, 32(5), 345-353.
12. Klimczak I., Małecka M., Szlachta M., Gliszczyńska-Świgło A. (2007). Effect of storage on the content of polyphenols, vitamin C and the antioxidant activity of Orange juices. *Journal of Food Composition and Analysis*, 20, 313-322.
13. Landolt E. (1996). *Vaccinium vitis-idaea* L. subsp. minus (G. Lodd.) Hultén (*Ericaceae*), an overlooked circumpolar-arctic taxon of the Alps. In *Anales del Jardín Botánico de Madrid*, 54(1), 277-284.
14. Laslo E., Köbölkuti Z. A. (2017). Total phenol content and antimicrobial activity of lingonberry (*Vaccinium vitis-idaea* L.) from several areas in the eastern Carpathians. *Notulae Scientia Biologicae*, 9(1), 77-83.
15. Lähti K., Riihinen K.R., Jaakola L. (2011). Phenolic compounds in berries and flowers of a natural hybrid between bilberry and lingonberry (*Vaccinium _intermedium* Ruthe). *Phytochemistry*, 72, 810–815.
16. Lee J., Finn C.E. (2012). Lingonberry (*Vaccinium vitis-idaea* L.) grown in the Pacific Northwest of North America: anthocyanin and free amino acid composition. *Journal of functional foods*, 4(1), 213-218.
17. Pisulewska E., Andrzejewska J., Fijołek M., Halarewicz A., Mederska M. (2015). 500 przypraw i ziół leczniczych. Wyd. SBM Renata Gmitrzak, Warszawa.
18. PN-90/A-75101/04. Przetwory owocowe i warzywne. Przygotowanie próbek i metody badań fizykochemicznych. Oznaczanie kwasowości ogólnej.
19. PN-90/A-75101/06. Przetwory owocowe i warzywne. Przygotowanie próbek i metody badań fizykochemicznych. Oznaczenie pH metodą potencjometryczną.
20. PN-EN 12145:2001 Soki owocowe i warzywne -- Oznaczanie całkowitej suchej substancji -- Metoda grawimetryczna oznaczania ubytku masy w wyniku suszenia.
21. PN-EN 14130 (2003). Artykuły żywnościowe – Oznaczenie witaminy C za pomocą HPLC.
22. Re R., Pellegrini N., Proteggente A., Pannala A., Yang M., Rice-Evans C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology & Medicine*, 26, 1231-1237
23. Roman I., Puică C., Toma V.A. (2014). The effect of *Vaccinium vitis idaea* L. extract administration on kidney structure and function in alcohol intoxicated rats. *Studia Universitatis Vasile Goldis Seria Stiintele Vietii (Life Sciences Series)*, 24(4).
24. Senderki M.E. 2016. Prawie wszystko o ziołach i ziołolecznictwie. Wyd. Mateusz E. Senderski, Podkowa Leśna.
25. Singleton V.L., Orthofer R., Lamuela-Raventós R.M. (1999). Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Methods in Enzymology. Oxidants and Antioxidants*, 299, 152-178.
26. Su Z. (2012). Anthocyanins and flavonoids of *Vaccinium* L. *Farmaceutical Corps*, 3, 7-37.
27. Szwendler I., Sobkowiak M. (1998). Rośliny. Multico Oficyna Wydawnicza, Warszawa.
28. Vyas P., Curran N. H., Igamberdiev A. U., Debnath S. C. (2015). Antioxidant properties of lingonberry (*Vaccinium vitis-idaea* L.) leaves within a set of wild clones and cultivars. *Canadian Journal of Plant Science*, 95(4), 663-669.
29. Wierzbicka A. (2012). Magia, wierzenia a gwarowe określenia roślin. *Rozprawy Komisji Językowej*, 58, 363-372.
30. Witkowska A., Zujko M.E. (2009). Aktywność antyoksydacyjna owoców leśnych. *Bromatologia i Chemia Toksykologiczna*, 3(42), 900-903.
31. Wozniwoda B. (2014). Leśne rośliny o jadalnych owocach – przegląd botaniczny. *Studia i Materiały Centrum Edukacji Przyrodniczo-Leśnej*, 16(1 [38]), 105-118.
32. Zhishen J., Mengcheng T., Jianming W. (1999). The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chemistry*, 64, 555-559.

Badania zostały sfinansowane z dotacji przyznanej przez MNiSW na działalność statutową

TOMASZ TARKO¹, ALEKSANDRA DUDA-CHODAK¹, ANNA ŁOBODA¹

¹*Katedra Technologii Fermentacji i mikrobiologii Technicznej, Wydział Technologii Żywności, Uniwersytet Rolniczy im. Hugona Kołłątaja w Krakowie*

WPŁYW WYBRANYCH ZABIEGÓW NA WYDAJNOŚĆ TŁOCZENIA I PARAMETRY JAKOŚCIOWE MOSZCZÓW JABŁKOWYCH

Przegląd literatury

Jabłka są głównym surowcem w produkcji win owocowych i cydrów. Polska jest jednym z czołowych producentów jabłek w Europie i na świecie. Najbardziej odpowiednim surowcem są odmiany późne (zimowe). Wina z jabłek letnich są trudniejsze w klarowaniu i przechowywaniu [Cieślak, 2001]. Pożądane są owoce dojrzałe fizjologicznie, ponieważ zawierają więcej cukru, o średniej wielkości, kwaskowate i cierpkie [Kruczyńska, 2013].

Obróbka wstępna jabłek podczas produkcji napojów fermentowanych obejmuje mycie, selekcję i usuwanie owoców nienadających się do dalszego przerobu. Przygotowane owoce poddaje się procesowi rozdrabniania, uzyskując miazgę. Jeżeli jabłka są twarde i niedojrzałe powinno się je rozdrabniać na mniejsze części natomiast jabłka dojrzałe i przejrzyste nie powinny być nadmiernie rozdrobnione, gdyż utrudnia to tłoczenie. Bardzo ważnym etapem jest tłoczenie moszczu – oddzielenie soku od części stałych [Myśliwiec, 2006]. Przemysłowo stosuje się do tego celu prasy taśmowe, warstwowe oraz koszowe. Przygotowanie moszczu do dalszych zabiegów związanych z produkcją wina owocowego polega na jego doprawianiu. Moszcze owocowe mogą zawierać niewystarczającą do wytworzenia normatywnego stężenia etanolu (9-18%) ilość cukrów. Wymagana jest wtedy szaptalizacja (dosłodzenie) moszczu. Ponadto niektóre gatunki owoców mogą zawierać zbyt dużo kwasów. Należy wtedy rozcieńczyć moszcz, co skutkuje obniżeniem zawartości cukrów i koniecznością dodatku sacharozy [Jarczyk i Berdowski, 1999]. Czasami stosuje się także suplementację moszczu pożywkami dla drożdży, np. siarczan amonu

Kolejnym etapem produkcji wina jest dodanie drożdży szlachetnych i fermentacja moszczu. Łączny czas trwania fermentacji, w zależności od użytego moszczu, trwa zwykle 4-8 tygodni. Po odfermentowaniu cukrów młode wino zaczyna się klarować. Na dnie zbiornika zbierają się cząstki owoców, wytrącone białka oraz znaczna ilość komórek drożdżowych. Dlatego kolejnym etapem jest obciążenie wina osadu. Etapem kształującym właściwości sensoryczne gotowego trunku jest leżakowanie. Odbywa się w tankach leżakowych, najczęściej w niskiej temperaturze, gdzie następuje harmonizacja smaku i zapachu, poprzez szereg reakcji fizycznych,

chemicznych i enzymatycznych. Końcowym etapem jest filtracja wina oraz jego rozlew i ewentualna pasteryzacja [Wzorek i Pogorzelski, 1998].

Porównanie metod obróbki miazgi przed tłoczeniem

Do najczęściej stosowanych metod obróbki wstępnej należy obróbka mechaniczna, enzymatyczna i termiczna. Rozdrobnienie surowca ma na celu zniszczenie struktury komórkowej oraz zmniejszenie wymiaru cząstek. Prowadzi to do łatwiejszego wydobycia soku z miazgi i zwiększenia wydajności tłoczenia [Wilczyński i in., 2016]. Wskazano na różną wydajność tłoczenia, w zależności od odmiany jabłek [Nadulski i in., 2014]. Cechy jakościowe moszczu także są zależne od odmiany, z której moszcz jest pozyskiwany. Tłoczenie miazgi polega na rozdzielaniu układu ciała stałego–ciecz–pęcherzyki powietrza. Powszechnie stosuje się rozdrabnianie owoców oraz ich ogrzewanie, a następnie miazga poddawana jest procesowi obróbki enzymatycznej [Strzałkowska i in., 2011].

Istnieje wiele zabiegów dodatkowych, które można zastosować na tym etapie technologicznym. Wyróżnić tu można stosowanie pola elektrycznego, promieniowania jonizującego, fal ultradźwiękowych, promieniowania mikrofalowego, a także ogrzewanie oraz zamrażanie i rozmrażanie miazgi [Strzałkowska i in., 2011].

Zamrażanie – obróbka termiczna prowadząca do destruktywnego wpływu na strukturę tkanek. Zależnie od szybkości zamrażania, w wyniku wymrażania kryształów lodu, może nastąpić rozrywanie błon komórkowych, rozdzielanie komórek oraz wzrost ciśnienia osmotycznego wewnątrz komórki, co skutkuje zwiększeniem otrzymania frakcji ciekłej [Wilczyński i in., 2016].

Obróbka enzymatyczna

Obecność związków pektynowych utrudnia tłoczenie, dlatego ważnym elementem obróbki wstępnej jest dodawanie preparatów enzymatycznych o aktywności pektynaz. Działanie tych enzymów polega na hydrolizie łańcucha pektynowego na mniejsze fragmenty, co skutkuje zmniejszeniem lepkości wydzielanego soku. Skuteczność działania preparatów enzymatycznych jest zależna głównie od ich aktywności, temperatury w jakiej przebiega proces, stopnia rozdrobnienia miazgi oraz intensywności mieszania. Proces pektynolizy przeprowadza się zwykle w 20°C, w ciągu kilku godzin [Srivastava i Tygai, 2013; Wilczyński i in., 2016].

Podfermentowanie miazgi (maceracja)

W badaniach Ochmian i in. [2012] wykazano, że miazga, która poddana jest procesowi zafermentowania jest łatwiejsza w tłoczeniu, a sam proces jest wydajniejszy. Dalsza fermentacja przebiega szybciej, a powstałe wino dobrze się klaruje i zawiera więcej ekstraktu ogólnego. Dzieje się tak dlatego, że podczas

fermentacji w miazdze lepiej przebiega proces wylugowania barwników i garbników ze skórki.

Podgrzewanie miazgi

Badania Wang i Sastry [2002] wykazały podniesienie wydajności tłoczenia soku jabłkowego w przypadku ogrzewania miazgi różnymi metodami. Porównano ogrzewanie oporowe i mikrofalowe w różnych temperaturach i temperatura 50°C okazała się najlepszą w poprawie wydajności. Udowodniono, że obróbka cieplna wpływa na zniszczenie ścian komórkowych, a co za tym idzie do podniesienia uzysku soku podczas tłoczenia.

Obróbka mikrofalowa

Mikrofałe to jeden z rodzajów promieniowania elektromagnetycznego o częstotliwości drgań od 300 MHz do 300 GHz. Podczas przetwarzania żywności wykorzystywane są dwie częstotliwości: 915 i 2450 MHz. Mechanizm działania mikrofal polega na oddziaływaniu związków polarnych i jonów z polem elektromagnetycznym, gdzie cząstki (głównie wody) drgają i rotują pod wpływem mikrofal, a jony przemieszczają się zgodnie z kierunkiem zmiennego pola elektrycznego. Jony zderzające się z cząsteczkami wody przekazując im energię kinetyczną. Tarcie jakie powstaje generuje ciepło, część wody odparowuje, a ciśnienie wewnątrzkomórkowe wzrasta. Wang i Sastry [2002] wykazali pozytywny wpływ działania promieniowania mikrofalowego na wydajność tłoczonego soku z jabłek. Częstotliwość okazała się być bardzo ważnym czynnikiem, gdyż wykazano, że niższe częstotliwości mikrofal sprzyjają poprawie wydajności, a te wyższe mogą prowadzić do utraty wilgoci, co daje odwrotny skutek jeśli chodzi o uzysk soku.

Celem pracy było porównanie różnych metod obróbki wstępnej miazgi z jabłek i ocena ich wpływu na wydajność tłoczenia oraz jakość uzyskanego moszczu jabłkowego.

Material i metody

Materiał badawczy stanowiły świeże jabłka odmiany Topaz, pochodzące z sadów pomologicznych Uniwersytetu Rolniczego w Krakowie w Garlicy Murowanej.

Przygotowanie wariantów doświadczenia

Jabłka umyto i osuszono, a następnie rozdrobniono przy pomocy szarpaka laboratoryjnego. Przed tłoczeniem miążgę poddano wybranym zabiegom wstępnym:

- obróbka enzymatyczna (Pektoenzym, Browin) – dawka zgodna z deklaracją producenta,
- obróbka mikrofalowa (700 W, 90 s),
- maceracja miążgi (24h), temperatura pokojowa,

- ogrzewanie miazgi w łaźni wodnej do osiągnięcia temperatury 50°C (około 10 min) i natychmiastowe tłoczenie,
- zamrożenie całych owoców w zamrażarce (-18°C) i ich rozmrożenie.

Kontrolę stanowiły moszcze, do których wytwarzania owoce były tylko umyte, osuszone i rozdrobnione. Wszystkie próby tłoczono przy użyciu prasy koszowej.

Oznaczenie ekstraktu

Pomiar ekstraktu wykonano metodą refraktometryczną (refraktometr Abbego), a wynik wyrażano w °Błg.

Oznaczenie kwasowości ogólnej

Próby moszczów zobojętniano (pH = 7.0) 0,1M roztworem NaOH, wobec pH-metru, a kwasowość ogólną wyrażano w g kwasu jabłkowego/l.

Oznaczenie aktywności antyoksydacyjnej

Aktywność przeciwutleniającą oznaczono metodą spektrofotometryczną z wykorzystaniem aktywnego kationorodnika ABTS (2,2'-azynobis(3-etylobenzotiazolino-6-sulfonian), Sigma). Rodnik ABTS był generowany w reakcji chemicznej między 7 mM wodnym roztworem soli diamonowej 2,2'-azynobis(3-etylobenzotiazolino-6-sulfonianu)), a 2,45 mM peroksydisiarczanem(VI) potasu ($K_2S_2O_8$). Roztwór był przetrzymywany przez noc w ciemności, w temperaturze pokojowej, celem zakończenia reakcji i ustabilizowania kationorodnika ABTS. Do analiz, stężony roztwór rodniaka rozcieńczano buforem fosforanowym o pH 7,4, w taki sposób, by końcowa absorbancja roztworu mierzona przy długości fali 734 nm (spektrofotometr Beckman DU 650) wynosiła $0,70 \pm 0,02$ (ABTS_{0,7}). Do 1 ml ABTS_{0,7} odpipetowano 100 µl odpowiednio rozcieńczonej badanej próbki i mierzono absorbancję w 6. minucie od zmieszania. Zdolność przeciwutleniającą w próbach obliczano korzystając z krzywej wzorcowej, wykonanej każdorazowo dla roztworów syntetycznej witaminy E (Trolox – kwas (±)-6-hydroksy-2,5,7,8-tetrametylochromano-2-karboksyłowy, Sigma) i wyrażano jako mg troloxu/100 ml.

Oznaczenie zawartości polifenoli ogółem

Zawartość polifenoli ogółem oznaczono metodą Folina-Ciocalteu z wprowadzonymi modyfikacjami. Do 5 ml odpowiednio rozcieńczonej próby dodawano 45 ml wody redestylowanej, pobierano 5 ml, a następnie dodawano 0,25 ml odczynnika Folina-Ciocalteu (rozcieńczonego wodą w stosunku 1:1 v/v, Sigma) oraz 0,5 ml 7% Na_2CO_3 (POCh). Inkubowano przez 30 minut, bez dostępu światła, po czym mierzono absorbancję (spektrofotometr Beckman DU 650, $\lambda=760$ nm, wobec PBS, jako próby ślepej). Ogólną zawartość polifenoli wyrażano w mg katechiny/100 ml, w oparciu o przygotowaną wcześniej krzywą wzorcową.

Analiza statystyczna wyników

Doświadczenia wykonywano w trzech powtórzeniach, a wyniki przedstawiano jako ich średnią arytmetyczną (\pm odchylenie standardowe). Analizę statystyczną danych przeprowadzono za pomocą programu InStat v. 3.01 (GraphPad Software Inc., USA). W celu określenia istotności różnic między średnimi zastosowano jednoczynnikową analizę wariancji (ANOVA) z testem post hoc Tukey'a. Rozkład normalności określono za pomocą testu Kołgomorowa-Smirnova.

Wyniki i dyskusja

Ocenę wpływu rodzaju obróbki wstępnej na wydajność tłoczenia, zawartość ekstraktu i kwasowość ogólną uzyskanych moszczów jabłkowych przedstawiono w tabeli 1.

Tabela 1. Wpływ rodzaju obróbki wstępnej na wydajność tłoczenia, zawartość ekstraktu i kwasowość ogólną moszczów jabłkowych

Rodzaj obróbki wstępnej	Wydajność tłoczenia [ml soku/1 kg owoców]	Zawartość ekstraktu [%]	Kwasowość ogólna [g kwasu jabłkowego/l]
Kontrola	263 \pm 6 ^c	10,9 \pm 0,9 ^{c,d}	7,0 \pm 0,4 ^c
Obróbka mikrofalowa	299 \pm 5 ^b	11,1 \pm 0,3 ^{c,d}	8,7 \pm 0,3 ^b
Obróbka enzymatyczna	383 \pm 6 ^a	10,3 \pm 0,1 ^d	7,3 \pm 0 ^c
Podgrzewanie do 50°C	135 \pm 17 ^d	11,8 \pm 0,6 ^c	7,2 \pm 0,4 ^c
Maceracja miazgi	261 \pm 10 ^{b,c}	13,3 \pm 0,3 ^b	6,0 \pm 0,3 ^d
Mrożenie	173 \pm 49 ^d	16,1 \pm 1,3 ^a	9,4 \pm 0,5 ^a

Te same litery (kolumny) świadczą o braku istotności statystycznej dla $p < 0,05$

Rodzaj zastosowanej obróbki wstępnej wpłynął w istotny sposób na wydajność tłoczenia soku. Najwyższą wydajność uzyskano w próbie z użyciem preparatu enzymatycznego oraz po obróbce mikrofalowej. Niski uzysk soku obserwowano w próbach poddanych wcześniejszemu mrożeniu oraz podgrzewaniu do 50°C.

Obróbka enzymatyczna miazgi w największym stopniu (o ponad 45% w odniesieniu do kontroli) zwiększała wydajność tłoczenia. Jabłka należą do owoców bardzo bogatych w pektyny. Struktura pektyn i ich właściwości fizykochemiczne ograniczają wypływ soku komórkowego [Szajdek i in., 2006; Srivastava i Tygai, 2013]. Hydroliza pektyn w bardzo widoczny sposób przyczyniła się do zwiększenia wydajności tłoczenia. Podobne rezultaty spodziewano się osiągnąć po maceracji miazgi. Natywne pektynazy owoców wraz z częściowym podfermentowaniem miazgi powinny zwiększać wydajność procesu tłoczenia. Uzyskane wyniki (zbliżone do

kontroli) odbiegał od oczekiwań. Prawdopodobną przyczyną mogła być niska aktywność macierzystych enzymów pektynolitycznych lub zbyt krótki czas maceracji.

Badania Zhang i Zhang [2014] wykazały pozytywny wpływ działania promieniowania mikrofalowego na wydajność tłoczenia soku jabłkowego. Podczas obróbki mikrofalowej ściany komórkowe ulegają zniszczeniu, co generuje większy uzysk soku. Obróbka ta podnosi również temperaturę miazgi do wartości podobnych jak ogrzewanie na łaźni wodnej, ale w bardzo krótkim czasie, co miało istotny wpływ na wydajność tłoczenia (tab. 1). Miazga ogrzewana na łaźni wodnej do temperatury 50°C zmieniła konsystencję i była bardzo trudna do tłoczenia. Dlatego uzysk soku w tym przypadku był o połowę mniejszy, niż uzyskany z próby poddanej obróbce mikrofalowej.

Z kolei po rozmrożeniu jabłka utraciły swoją naturalną strukturę – zmniejszyła się jędrność owoców. Miazga uzyskana z takich jabłek była mało soczysta, zwiotczała, co negatywnie wpłynęło na wydajność tłoczonego soku, mimo, że tworzące się podczas zamrażania kryształki lodu powinny rozrywać ściany komórkowe owoców. Prawdopodobnie zaszedł proces sublimacji – odparowała część wody z zamrożonych jabłek, co spowodowało niski uzysk soku po tłoczeniu.

Ekstrakt ogólny moszczu jest m.in. cechą odmianową i jest dodatkowo zależny od warunków przechowywania owoców przed przerobem [Nadulski i in., 2014]. Zgodnie z Rozporządzeniem Ministra Rolnictwa i Rozwoju [Dz. U., 2013] minimalna zawartość ekstraktu ogólnego w moszczu jabłkowym przeznaczonym do winifikacji powinna wynosić 9,5%. Wszystkie uzyskane moszcze (tab. 1) spełniały te wymogi. Obróbka mikrofalowa, enzymatyczna i podgrzewanie prób do 50°C nie wpłynęły w istotny sposób na zawartość ekstraktu w wytłoczonych moszczach. Wzrost ekstraktu w porównaniu do próby kontrolnej nastąpił w przypadku maceracji oraz zamrażania owoców. Najwięcej ekstraktu zawierał moszcz wytłoczony z zamrożonych wcześniej jabłek, co może mieć związek z bardzo niską wydajnością tłoczenia tego moszczu. Wysoka zawartość ekstraktu w przypadku wstępnej maceracji miazgi może być skutkiem wyługowania substancji rozpuszczalnych ze skórki owoców w trakcie jej trwania [Ochmian i in., 2012].

Minimalna kwasowość ogólna moszczów jabłkowych nie powinna być mniejsza 5 g kwasu jabłkowego/l [Dz. U., 2013]. Na podstawie uzyskanych wyników (tab. 1) można wnioskować, że bez względu na rodzaj zastosowanej obróbki wstępnej, wszystkie moszcze przekroczyły tę wartość. Istotny, w odniesieniu do kontroli, wzrost kwasowości zaobserwowano w przypadku prób poddanych wcześniej obróbce mikrofalowej i mrożeniu. W przypadku prób mrożonych różnice wynikają najprawdopodobniej z niskiej wydajności tłoczenia. Niższy uzysk soku przekłada się na wzrost jego kwasowości – prawdopodobnie do moszczu przechodzą składniki

ekstraktu (m.in. kwasy organiczne), a mniejsza ilość wody. Obniżenie kwasowości, w stosunku do kontroli, nastąpiło w przypadku prób macerowanych. Badania Zhang i Zhang [2008] dowodzą, że w trakcie fermentacji możliwy jest spadek kwasowości o 5-40%. Kwasy jabłkowy i cytrynowy mogą być częściowo metabolizowane przez drożdże i bakterie (biologiczne odkwaszanie win) do kwasu mlekowego, charakteryzującego się niższą kwasowością niż wymienione wcześniej kwasy [Cioch i Tuszyński, 2014].

Wyniki oceny zawartości polifenoli ogółem oraz aktywności antyoksydacyjnej uzyskanych moszczów przedstawiono w tabeli 2.

Tabela 2. Zawartość polifenoli ogółem i aktywność antyoksydacyjna badanych moszczów w zależności od zastosowanej obróbki wstępnej

Rodzaj obróbki wstępnej	Zawartość polifenoli ogółem [mg katechiny/100 ml]	Aktywność antyoksydacyjna [mg troloxu/100 ml]
Kontrola	21,1±1,5 ^{b,c}	53,3±11 ^c
Obróbka mikrofalowa	17,1±1,5 ^{b,c}	41,1±8,2 ^c
Obróbka enzymatyczna	25,4±5,5 ^b	68,4±15,3 ^{b,c}
Podgrzewanie do 50°C	30,9±9,1 ^b	124,3±26,7 ^a
Maceracja miazgi	13,8±7,3 ^c	45,7±22,2 ^c
Mrożenie	33,0±9,0 ^a	87,3±40,5 ^b

Te same litery (kolumny) świadczą o braku istotności statystycznej dla $p < 0,05$

Zawartość związków przeciwutleniających w dużej mierze zależy od gatunku rośliny i jest związana z występowaniem naturalnych antyoksydantów. Właściwości przeciwutleniające zależą od wielu czynników i nawet w obrębie tego samego gatunku mogą występować duże różnice. Aktywność przeciwutleniająca jest więc cechą odmianową i zależy od warunków uprawy surowca, przechowywania oraz transportu [Fabisiak i in., 2005]. Wybrane techniki wstępnej obróbki miazgi jabłkowej (podgrzewanie i mrożenie) przyczyniły się zwiększenia potencjału przeciwutleniającego prób, w odniesieniu do kontroli. Próby poddane obróbce mikrofalowej i maceracji wykazywały niższe niż kontrola wartości tego parametru, ale różnice nie były istotne statystycznie (tab. 2). Badania Skąpskiej i in. [2006] wykazały istotny wzrost aktywności przeciwutleniającej w wyniku obróbki enzymatycznej miazgi jabłek. W soku surowym zaobserwowano wyższą zawartość związków fenolowych niż w miazdze, co wskazuje na wydajny proces ekstrakcji frakcji rozpuszczalnej w procesie tłoczenia. Podgrzewanie prób miazgi jabłkowej, jak

również jej mrożenie, przyczyniło się najprawdopodobniej do inaktywacji enzymów odpowiedzialnych za rozkład polifenoli (oksydaza polifenolowa) i dzięki temu zachowanie większego potencjału antyoksydacyjnego moszczów. Ogrzanie prowadzi także do zmniejszenia ilości tlenu w moszczu i ogranicza rozkład witamin przeciwutleniających [Markowski i in., 2008].

Po obróbce termicznej (mrożenie i podgrzewanie) oraz zastosowaniu preparatów enzymatycznych obserwowano wzrost zawartości polifenoli ogółem w próbach, ale jedynie w przypadku podgrzewania i mrożenia były to różnice istotne statystycznie. Można wnioskować, że za aktywność antyoksydacyjną moszczów jabłkowych odpowiadają przede wszystkim związki polifenolowe w nim zawarte ($R^2 = 0,86$). Wzrost zawartości polifenoli w próbach poddawanych wcześniej obróbce termicznej można tłumaczyć przedostaniem się do moszczu części owoców bogatych w polifenole. Wykazano, że obróbka enzymatyczna obniża zawartość polifenoli kosztem poprawy wydajności tłoczenia [Nadulski i in., 2014]. W niniejszych badaniach skutek był odwrotny. Prawdopodobnie zwiększenie udziału soku, po zastosowaniu enzymów pektynolitycznych, ograniczyło dostęp tlenu do polifenoli w miazdze. Moszcz wypełnił miejsca pomiędzy cząstkami miazgi, wyparł powietrze i ograniczył oksydację związków polifenolowych oraz witamin odpowiedzialnych w dużej mierze za aktywność antyoksydacyjną.

Wnioski

1. Rodzaj zastosowanej obróbki wstępnej ma wpływ na wydajność tłoczenia i parametry jakościowe moszczów jabłkowych.
2. Zastosowanie preparatów enzymatycznych ma znaczący wpływ na poprawę wydajności tłoczenia. Wydajność tłoczenia moszczów z zamrożonych i rozmrożonych później jabłek była niska, ale sok w ten sposób uzyskany charakteryzował się wysoką zawartością ekstraktu i polifenoli oraz wysoką kwasowością i aktywnością antyoksydacyjną.
3. Obróbka mikrofalowa polepszyła wydajność tłoczenia soku i zwiększyła kwasowość moszczu, ale zmniejszeniu ulegała zawartość ekstraktu.
4. Podgrzewanie miazgi do 50°C miało korzystny wpływ na aktywność antyoksydacyjną.

Badania zostały sfinansowane ze środków Narodowego Centrum Nauki w ramach projektu 2015/19/B/BN9/01352 oraz z dotacji na utrzymanie potencjału badawczego przyznanego przez MNiSW

Literatura

1. Cielślak J. (2001). Domowy wyrób win owocowych, miódów pitnych, wódek, likierów, cocktailów. Warszawa, Watra.
2. Cioch M., Tuszyński T. (2014). Biologiczne metody odkwaszania win gronowych, *Nauki Inżynierskie i Technologie*, 1(12), 9-23.

3. Fabisiak A., Sheng L., Stawczyk J., Witrowa-Rajchert D. (2005). Wpływ metody i temperatury suszenia jabłek na aktywność przeciwutleniającą otrzymanych z nich ekstraktów. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2(43) Supl., 318-327.
4. Jarczyk A., Berdowski J.B. (1999). *Przetwórstwo Owoców i Warzyw*. Warszawa, WSP.
5. Kruczyńska D. (2013). *Ilustrowany Katalog Odmian Jabłoni*. Skierniewice, Instytut Ogrodnictwa.
6. Markowski J., Mieszczakowska M., Fastyn M., Plocharski W. (2008). Aktywność antyoksydacyjna owoców i przetworów z jabłek. *Przemysł Fermentacyjny i Owocowo-Warzywny*, 52(4), 25-26.
7. Myśliwiec R. (2006). *Wino i Winorośl*. Warszawa, PWRiL.
8. Nadulski R., Kobus Z., Guz T., Strzałkowska K., Kosik D. (2014). Przydatności wybranych odmian jabłek do tłoczenia w warunkach gospodarskich. *Agricultural Engineering*, 18(1), 147-154.
9. Ochmian I., Chełpiński P., Rozwarski R., Strzelcki R., Pantecki P., Angelov L., Stalev B. (2012). Jakość owoców dwóch odmian winorośli oraz wpływ sposobu ich maceracji na barwę moszczu. *Folia Pomeranae Universitatis Technologiae Stetinensis Agricultura, Alimentaria, Piscaria, Zootechnica*. 295(22), 35-42.
10. Rozporządzenie Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z Dnia 21 maja 2013 r., 29 maja 2013 r. poz. 624, w sprawie szczegółowego sposobu wyrobu fermentowanych napojów winiarskich oraz metod analiz tych napojów do celów urzędowej kontroli w zakresie jakości handlowej.
11. Skąpska S., Sieliwanowicz B., Jasiska U., Owczarek L., Lipowski J., Trzciska M., Hałasiska A. (2006). Zmiany zawartości naturalnych przeciwutleniaczy oraz pojemności przeciwutleniającej zachodzące w trakcie procesu otrzymywania soku zagęszczonego z jabłek. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 1(46) Supl., 152-160.
12. Srivastava S., Tyagi S.K. (2013). Effect of enzymatic hydrolysis on the juice yield from apple fruit (*Malus domestica*) pulp, *International Journal of Biotechnology and Bioengineering Research*. 4(4), 299-306.
13. Strzałkowska K., Nadulski R., Wróblewska-Barwińska K. (2011). Efektywność pozyskiwania soku z warzyw korzeniowych zależności od stopnia rozdrobnienia miazgi i prędkości tłoczenia. *Acta Scientiarum Polonorum, Technica Agraria*, 10(3-4), 27-33.
14. Szajdek A., Dąbkowska E., Borowska E. (2006). Wpływ obróbki enzymatycznej miazgi owoców jagodowych na zawartość polifenoli i aktywność przeciwutleniającą soku, *Nauka. Technologia. Jakość*. 4(49), 59-67.
15. Wang W.C., Sastry S.K. (2002). Effects of moderate electrothermal treatments on juice yield from cellular. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 3, 371-377.
16. Wilczyński K., Kobus Z., Krawczuk A., Nadulski R. (2016). Wpływ obróbki wstępnej miazgi na napięcie powierzchniowe soków jabłkowych. *Inżynieria Przetwórstwa Spożywczego*, 1/4, 28-31.
17. Wzorek W., Pogorzelski E. (1998). *Technologia winiarstwa owocowego i gronowego*, Warszawa SIGMA-NOT.
18. Zhang S., Zhang R. (2014). Effects of microwave pretreatment of apple raw material on the nutrients and antioxidant activities of apple juice. *Journal of Food Processing*. ID 824050, 1-9.

MONIKA DRUŻKOWSKA¹, HALINA GAMBUŚ¹, FLORIAN GAMBUŚ², GABRIELA ZIĘĆ¹

¹*Katedra Technologii Węglowodanów, Wydział Technologii Żywności*
²*Katedra Chemii Rolnej i Środowiskowej, Wydział Rolniczo-Ekonomiczny*
Uniwersytet Rolniczy im. Hugona Kołłątaja w Krakowie

WPŁYW PREPARATÓW BŁONNIKOWYCH NA JAKOŚĆ I STARZENIE SIĘ CHLEBA PSZENNEGO

Streszczenie

Celem pracy było sprawdzenie możliwości stosowania do chlebów pszennych preparatów błonnikowych VITACEL, wyprodukowanych z łodyg pszenicy, typu WF 200, WF 600 i WF 600/30. W chlebach pszennych zastępowano mąkę pszenną ww. preparatami, w ilości 2, 3 i 4%.

Oznaczono wartość technologiczną mąki pszennej i wypieczono chleby metodą bezpośrednią. Oznaczono objętość chlebów, zmierzono ich masę, wyliczono stratę wypiekową i wydajność pieczywa oraz wykonano ocenę organoleptyczną metodą punktową. Oznaczono też parametry profilu mięksiszu, stosując analizę TPA, zarówno w dniu wypieku, jak i podczas 4-ro dobowego przechowywania. We wszystkich chlebach oznaczono zawartość wybranych mikro-i makroelementów metodą AOAC.

Ze względu na wszystkie oceniane parametry do powszechnego zastosowania zarekomendowano chleb z 3% udziałem preparatu WF 600.

Słowa kluczowe: preparaty błonnikowe, jakość pieczywa, proces starzenia się

Wprowadzenie

Na podstawie badań w ostatnim stuleciu ustalił się pogląd, że włókno pokarmowe odgrywa bardzo ważną rolę w życiu współczesnego człowieka, zmniejszając ryzyko wystąpienia tzw. przewlekłych chorób niezakaźnych (dawniej – chorób cywilizacyjnych).

Zwiększone spożycie produktów bogatych we włókno pomaga w profilaktyce i leczeniu wielu zaburzeń metabolicznych, jak np. hiperlipidemii, czy zaburzeń metabolizmu węglowodanów oraz wielu chorób przewodu pokarmowego takich jak: zaparcia nawykowe, uchyłkowatość, nowotwory okrężniczo - prośnicze [Bartnikowska, 1997 b; Galisteo i in., 2008; Gawęcki, 2016]. Produkty bogate w włókno pobudzają funkcje żucia i wydzielanie śliny, buforują i wiążą nadmiar kwasu solnego w żołądku, tworzą gąbczastą matrycę wypełniającą światło jelit, pobudzając w ten sposób ich perystaltykę i ukrwienie, tworzą korzystnie podłoże dla rozwoju pożądanej flory bakteryjnej w jelicie grubym oraz wpływają korzystnie na metabolizm węglowodanów i lipidów w organizmie [Bartnikowska i Piesiewicz, 1999; Brown i in., 1999; Meyer, 2004].

Według wielu autorów pieczywo jest głównym źródłem włókna pokarmowego dla przeciętnego Polaka [Piesiewicz, 1996; Ambroziak, 2012; Gawęcki, 2016], zwłaszcza tzw. pieczywo ciemne, produkowane z mąki wysokowyciągowej [Gawęcki, 2016]. W chlebach tzw. jasnych, wytwarzanych z mąki o niskim wyciągu i preferowanych przez konsumentów krajowych, ilość włókna pokarmowego znacznie się zmniejsza. Aby ochronić pozycję takiego pieczywa w diecie, do ciasta chlebowego wprowadza się wartościowe dodatki w postaci otrąb, nasion różnych roślin, śluzów, pektyn lub koncentratów włókna tzw. preparatów błonnikowych [Gambuś i in., 2010; Kawka, 2010; Zięć i in., 2013].

Celem podjętych badań było sprawdzenie możliwości stosowania do chlebów pszennych preparatów błonnikowych VITACEL wyprodukowanych z łądyg pszenicy. Założenia pracy obejmowały nie tylko ustalenie optymalnego udziału wyżej wymienionych preparatów błonnikowych, ale także określenie wpływu tych preparatów na parametry jakości i proces starzenia się uzyskanych chlebów.

Materiał i metody badań

Materiałem do badań była handlowa mąka pszenna typu 650 oraz preparaty błonnikowe VITACEL typu WF 200, WF 600 i WF 600/30, wyprodukowane w firmie Rettenmaier w Warszawie z łądyg pszenicy, w wyniku specjalnego termofizycznego procesu. Po procesie uszlachetnienia, uzyskany błonnik został uznany za środek spożywczy, który nie wymaga oznaczenia numerem „E”. Koncentraty te zawierają w swym składzie 98% włókna pokarmowego. Są to substancje o strukturze włóknistej, obojętne w smaku i zapachu. Poszczególne typy różnią się między sobą długością frakcji włókienek.

Ponadto materiał badawczy stanowiły chleby pszenne, wypieczone z mąki pszennej typu 650, w których część mąki pszennej w ilości 2, 3 i 4% zastępowano poszczególnymi rodzajami preparatów błonnikowych.

Analiza mąki obejmowała: liczbę sedymentacji metodą mikro [Cygankiewicz, 1997], liczbę opadania metodą Hagberga Pertena wg ICC Standard nr 107, oznaczenie ilości glutenu mokrego metodą Standard ICC 137 w aparacie Glutomatic 2200, wartość indeksu glutenowego w wirówce typu 2015 firmy Perten, a także analizę farinograficzną w farinografie firmy Brabender.

Wypiek laboratoryjny chlebów pszennych o konsystencji ciasta 350 J.B. przeprowadzono metodą bezpośrednią, stosując 2% dodatek soli i 3% dodatek piekarskich drożdży suszonych Saf Instant (*S. cerevisiae*)

Proces przygotowania ciasta obejmował: mieszenie ciasta w czasie 10 minut, fermentację ciasta (15 minut w temperaturze 35°C), formowanie kęsów ciasta o masie 250 g, drugą fermentację (45 minut, w foremkach, w temperaturze 35°C). Chleby

wypiekano w temperaturze 230°C przez 30 minut, w piecu Miwe Condo, typ CO 2608 (Miwe, Niemcy).

Po wyjęciu z pieca chleby studzono przez około 2 h, następnie ważono, mierzono objętość w laserowym mierniku objętości Volscan Profiler i wykonywano ocenę organoleptyczną metodą punktową według PN-A74108:1996 przez 15-osobowy zespół o sprawdzonej wrażliwości sensorycznej. Oceniano następujące wyróżniki jakości pieczywa: wygląd zewnętrzny, barwę i grubość skórki, elastyczność i porowatość miękiszu, smak oraz zapach. Do uzyskanej liczby punktów doliczano każdorazowo 8 punktów za wskaźniki fizykochemiczne, w celu standaryzacji oceny organoleptycznej z fizykochemiczną. Na podstawie ogólnej liczby punktów określano klasę jakości pieczywa. Wyliczano również całkowitą stratę wypiekową oraz wydajność otrzymanego pieczywa [Jakubczyk i Haber, 1989]. Chleby przechowywano przez 3 doby w woreczkach z folii polietylenowej (LDPE) i w stałych warunkach wilgotności względnej (64%) oraz w temp. 20°C. Zarówno w dniu wypieku, jak i każdego dnia przechowywania, oznaczano: wilgotność miękiszu chleba (według AOAC 2006, metoda nr 925.10) oraz wybrane cechy mechaniczne miękiszu metodą TPA, tj. twardość, żujność, odbojność i spójność w analizatorze tekstury TA.XT Plus (Stable Micro Systems, Wielka Brytania). Test polegał na dwukrotnym ściśnięciu próbki w środkowej części kromki o grubości 3 cm, trzpieniem o średnicy 20 mm, z prędkością przesuwu 2 mm·min⁻¹. Przerwa między przesuwami wynosiła 2 s, a stopień kompresji – 3 mm.

W badanych chlebach oznaczono zawartość wybranych mikro- i makroelementów metodą AOAC 958.1 (2016).

Wszystkie analizy wykonano co najmniej w dwóch powtórzeniach. Jednoczynnikową analizę wariancji wykonano stosując program komputerowy Statistica 10.0. Istotność różnic weryfikowano testem Duncana.

Wyniki i dyskusja

Handlowa mąka pszenna użyta do wypieku charakteryzowała się dobrą wartością wypiekową (tabela 1). Na tę ocenę wpłynęła zarówno korzystna liczba opadania, duża wodochłonność, dobry czas stałości ciasta oraz duża zawartość glutenu o dobrej jakości, o czym świadczy indeks glutenowy równy 67%. Do wypieku chleba i ciasta drożdżowego najodpowiedniejsza jest mąka o indeksie glutenowym 60-90% [Cygankiewicz, 1997]. W tabeli 2 zamieszczono wyniki oceny jakości chlebów ze zróżnicowanym udziałem preparatów błonnikowych VITACEL.

Tabela 1. Ocena wartości technologicznej mąki pszennej typu 650

Rodzaj parametru	Mąka pszenna typu 650
Liczba sendymentacji LS [cm ³]	50
Liczba opadania LO [s]	354
Wodochłonność mąki [%]	58,2
Czas rozwoju ciasta [min]	2,3
Czas stałości ciasta [min]	3,6
Liczba jakości	77
Rozmiękczenie ciasta J.B.	90
Ilość mokrego glutenu [%]	28,6
Indeks glutenu [%]	67

Udział wszystkich rodzajów preparatów błonnikowych zmniejszył objętość uzyskanych chlebów, w niewielkim stopniu wpływając również na zmniejszenie ich masy, w porównaniu z chlebem standardowym. Najbardziej korzystny pod tym względem okazał się 3% udział preparatu WF 600, który nie spowodował zmniejszenia masy chleba i w najmniejszym stopniu zmniejszył objętość bochenka, w porównaniu z chlebem standardowym. Chleb wypieczony z udziałem preparatu WF 600 charakteryzował się najmniejszą stratą wypiekową i wilgotnością miękiszu istotnie większą od chleba standardowego. Natomiast najmniejszą objętością bochenków charakteryzowały się chleby z 4% udziałem preparatu WF 200 i 4% udziałem preparatu WF 600/30.

Chleby z preparatami błonnikowymi wykazały też nieco mniejszą wydajność pieczywa, z wyjątkiem chleba z 3% udziałem preparatu WF 600, przy którym zaobserwowano nawet niewielki wzrost tej cechy (o 1 p.p.). Mimo zmniejszenia objętości, udział większości preparatów błonnikowych nie pogorszył oceny organoleptycznej uzyskanych chlebów. Tylko 4% udział preparatu WF 200 spowodował przekwalifikowanie chleba do II klasy jakości, pozostałe chleby utrzymały się w I klasie. Były one smaczne, preparaty włókna pokarmowego nie były wyczuwalne w miękiszu, a miększ chlebów charakteryzował się niezmienioną barwą, w odniesieniu do chleba standardowego.

Chleby z preparatami błonnikowymi nie zatrzymały też więcej wilgoci w miękiszu, w porównaniu ze standardowym chlebem pszennym (tabela 3). Najbardziej korzystny pod tym, względem okazał się chleb standardowy, który w czwartym dniu przechowywania odznaczał się największą wilgotnością miękiszu. Generalnie, we wszystkich chlebach zaobserwowano niewielkie straty wilgotności podczas przechowywania, co jest zgodne z

teorią starzenia się chleba. Chleb bowiem niekoniecznie musi tracić wilgoć w czasie starzenia się, gdyż stary, twardy miękisz często zawiera tyle samo wody co świeży [MacMasters, 1961; D'Appolonia i Morad, 1981; Gambuś, 1997; Fik, 2004]. Pozorne wysuszenie miękiszu chleba może być wynikiem transferu wody z jednego składnika do drugiego, częściej z glutenu do frakcji skrobiowej niż odwrotnie, co powoduje wzrost sztywności ścian komórkowych miękiszu i przez to wzrost jego twardości [Senti i Dimler, 1960; Gambuś, 1997; Fik, 2004].

Zastosowanie preparatów błonnikowych nie zahamowało również procesu starzenia się badanych chlebów, o czym świadczą parametry tekstury miękiszu, oznaczane przez 4 dni przechowywania (tabela 4). Miękisz chlebów z preparatami odznaczał się większą twardością od razu w dniu wypieku i zwiększał tę twardość z taką samą intensywnością jak chleb standardowy. Już 2% udział preparatu WF 200 (tabela 4) spowodował w czwartym dniu przechowywania taką twardość jak 3% udział preparatu WF 600, w tym samym dniu.

Ze względu na twardość miękiszu badanych chlebów każdy udział preparatu WF 200 okazał się najmniej korzystny (tabela 4). Wszystkie badane chleby – standardowy i z udziałem preparatów błonnikowych – charakteryzowały się zbliżoną elastycznością podczas całego okresu przechowywania. Podobnie, we wszystkich malała spójność miękiszu, choć w chlebach z preparatami była ona od razu mniejsza w dniu wypieku, podobnie jak większa była i żujność.

Na podstawie przeprowadzonych badań stwierdzono, że ze wszystkich ocenianych chlebów z preparatami błonnikowymi VITACEL należy wyróżnić chleb z 3% udziałem preparatu WF 600, który wykazał najmniejsze zmniejszenie objętości i dobrą wilgotność miękiszu, a także niewielki wzrost twardości miękiszu w dniu wypieku, w odniesieniu do chleba standardowego.

W uzyskanych chlebach ze zróżnicowanym udziałem preparatów błonnikowych VITACEL oznaczono zawartość niektórych mikro- i makroelementów. Wyniki tej oceny zamieszczono w tabeli 5 i 6. We wszystkich chlebach nie zaobserwowano zwiększenia się zawartości Mn, Cu, i Zn (tabela 5) oraz zawartości K (tabela 6) w porównaniu z chlebem pszennym, niezależnie od rodzaju i wielkości stosowanego dodatku preparatów. Nie zaobserwowano również zwiększenia zawartości Mg w miarę zwiększania dodatku preparatów WF 600 i WF 600/30. W najbardziej korzystnym, ze względu na parametry jakości, chlebie z 3% udziałem preparatu WF 600 oznaczono natomiast istotny wzrost zawartości Ca (o ok. 16 p.p.), wzrost zawartości Mg (o ok. 2 p.p.) oraz wzrost zawartości Fe (o ok. 6 p.p.), w porównaniu z chlebem standardowym.

Tabela 2. Ocena jakości uzyskanych chlebów ze zróżnicowanym udziałem preparatów błonnikowych

Rodzaj chleba	Masa chleba zimnego [g]	Objętość chleba [cm ³]	Objętość chleba ze 100g mąki [cm ³]	Wydajność pieczywa [%]	Strata wypiekowa całkowita [%]	Wilgotność miękiszu [%]	Ocena organoleptyczna	
							suma punktów	klasa jakości
Standard (chleb pszenny)	225c*	746 c	480 c	145 c	10,2 a	43,0 b	39	I
Standard + 2% WF 200	223 b	638 ab	410 b	144 b	10,9 b	44,0 b	37	I
Standard + 3% WF 200	220 a	599 ab	386 ab	141 a	12,2 c	43,5 b	36	I
Standard + 4% WF 200	224 c	548 c	353 ab	144 b	10,5 ab	44,2 c	33	II
Standard + 2% WF 600	223 b	728 c	469 c	144 b	10,7 b	44,6 d	38	I
Standard + 3% WF 600	225 c	690 bc	444 bc	146 c	9,9 a	44,6 d	38	I
Standard + 4% WF 600	223 b	626 b	404 b	143 ab	10,9 b	44,2 c	37	I
Standard + 2% WF 600/30	224 b	658 b	424 b	144 b	10,5 ab	41,9 a	38	I
Standard + 3% WF 600/30	221a	658 b	424 b	142 a	11,7 c	43,7 b	37	I
Standard + 4% WF 600/30	221a	594 a	382 a	142 a	11,5 c	43,7 b	36	I

*wartości oznaczone różnymi literami w kolumnach różnią się istotnie przy poziomie $\alpha=0,05$

Tabela 3. Istotność różnic w wilgotności miękkiszu chleba podczas przechowywania

Rodzaj chleba	Dni przechowywania	Wilgotność miękkiszu [%]
Standard (chleb pszenny)	0	44,03 c*
	1	43,81 b
	2	43,58 a
	3	43,51 a
Standard + 2% WF 200	0	43,54 c
	1	41,86 b
	2	40,72 a
	3	40,92 a
Standard + 3% WF 200	0	44,17 c
	1	43,71 b
	2	43,46 a
	3	43,45 a
Standard + 4% WF 200	0	43,22 c
	1	43,14 b
	2	43,00 b
	3	42,86 a
Standard + 2% WF 600	0	43,55 c
	1	43,25 b
	2	43,09 a
	3	43,01 a
Standard + 3% WF 600	0	44,63 c
	1	43,87 b
	2	43,68 b
	3	42,88 a
Standard + 4% WF 600	0	44,18 c
	1	43,90 b
	2	43,46 a
	3	43,41 a
Standard + 2% WF 600/30	0	41,85 b
	1	40,52 a
	2	40,51 a
	3	40,53 a
Standard + 3% WF 600/30	0	43,70 c
	1	43,52 b
	2	43,36 a
	3	43,38 a
Standard + 4% WF 600/30	0	43,70 c
	1	43,61 b
	2	43,52 a
	3	43,52 a

*0 – dzień wypieku, 1 – pierwszy dzień przechowywania, 2 – drugi dzień przechowywania, 3 – trzeci dzień przechowywania

**wartości oznaczone różnymi literami w obrębie poszczególnych dni różnią się istotnie przy poziomie $\alpha=0,05$

Tabela 4. Istotność różnic w parametrach tekstury miększu badanych chlebów podczas przechowywania

Rodzaj chleba	Dni przechowywania	Twardość [N]	Żujność [N]	Spójność	Odbojność
Standard (chleb pszenny)	0	4,48 a*	3,36 a	3,10 c	0,48 d
	1	11,21 b	5,71 c	1,20 b	0,27 c
	2	11,82 b	5,10 b	1,10 a	0,17 b
	3	12,23 c	5,20 b	1,10 a	0,14 a
Standard + 2% WF 200	0	7,85 a	6,52 a	2,31 c	0,47 d
	1	15,09 b	7,03 b	1,34 b	0,22 c
	2	16,31 c	7,24 b	1,00 a	0,16 b
	3	19,98 d	7,85 c	0,91 a	0,13 a
Standard + 3% WF 200	0	10,09 a	6,83 a	2,41 c	0,41 d
	1	18,45 b	7,85 b	1,09 b	0,20 c
	2	24,16 c	8,87 c	1,08 b	0,15 b
	3	24,36 c	8,87 c	0,75 a	0,12 a
Standard + 4% WF 200	0	17,53 a	11,52 a	1,95 c	0,41 c
	1	26,20 b	11,72 b	0,94 b	0,18 b
	2	31,40 c	11,93 b	0,74 a	0,14 a
	3	35,37 d	12,64 c	0,59 a	0,14 a
Standard + 2% WF 600	0	6,12 a	4,59 a	2,31 c	0,46 d
	1	12,74 b	6,52 c	1,34 b	0,25 c
	2	14,27 c	6,42 c	1,00 a	0,17 b
	3	14,68 c	5,91 b	0,91 a	0,15 a
Standard + 3% WF 600	0	6,12 a	4,59 a	2,41 c	0,45 d
	1	12,64 b	6,22 b	1,09 b	0,20 c
	2	14,27 c	6,32 b	1,08 b	0,16 b
	3	14,68 c	6,42 b	0,75 a	0,13 a
Standard + 4% WF 600	0	7,75 a	5,20 a	1,95 d	0,41 c
	1	16,11 b	6,63 b	0,94 c	0,18 b
	2	19,06 c	6,93 b	0,74 b	0,14 a
	3	21,92 d	7,14 c	0,58 a	0,13 a
Standard + 2% WF 600/30	0	5,10 a	3,87 a	2,78 c	0,48 c
	1	12,44 b	6,42 b	1,11 b	0,26 b
	2	17,02 c	6,63 b	0,88 a	0,17 a
	3	17,64 c	7,03 c	0,79 a	0,14 a
Standard + 3% WF 600/30	0	8,56 a	6,32 a	1,67 c	0,46 c
	1	15,80 b	7,24 c	0,90 b	0,22 b
	2	17,84 c	6,83 b	0,72 a	0,14 a
	3	17,84 c	6,32 a	0,71 a	0,12 a
Standard + 4% WF 600/30	0	8,87 a	6,63 a	1,65 c	0,46 c
	1	18,86 b	8,05 c	0,68 ab	0,18 b
	2	18,96 b	7,03 b	0,69 ab	0,14 a
	3	22,73 c	7,85 b	0,62 a	0,13 a

*0 – dzień wypieku, 1 – pierwszy dzień przechowywania, 2 – drugi dzień przechowywania, 3 – trzeci dzień przechowywania

**wartości oznaczone różnymi literami różnią się istotnie przy poziomie $\alpha=0,05$

Tabela 5. Zawartość mikroelementów w badanych chlebach

Rodzaj chleba	Zawartość wybranych mikroelementów [mg/kg]			
	Zn	Cu	Fe	Mn
Standard (chleb pszenny)	13,4 b*	2,0 a	47,3 a	6,7 a
Standard + 2% WF 200	13,3 ab	2,0 a	48,0 b	6,6 a
Standard + 3% WF 200	13,2 a	2,0 a	48,3 c	6,6 a
Standard + 4% WF 200	13,4 b	2,0 a	48,7 c	6,6 a
Standard + 2% WF 600	13,3 ab	2,0 a	49,0 d	6,6 a
Standard + 3% WF 600	13,2 a	2,0 a	49,8 d	6,6 a
Standard + 4% WF 600	13,2 a	2,0 a	50,6 e	6,6 a
Standard + 2% WF 600/30	13,4 b	2,0 a	47,5 a	6,6 a
Standard + 3% WF 600/30	13,3 ab	2,0 a	47,7 b	6,6 a
Standard + 4% WF 600/30	13,2 a	2,0 a	47,8 b	6,6 a

*wartości oznaczone różnymi literami w kolumnach różnią się istotnie przy poziomie $\alpha=0,05$

Tabela 6. Zawartość makroelementów w badanych chlebach

Rodzaj chleba	Zawartość wybranych makroelementów [mg/kg]		
	K	Mg	Ca
Standard (chleb pszenny)	2522 c*	496 a	104 a
Standard + 2% WF 200	2473 bc	495 a	120 c
Standard + 3% WF 200	2449 b	495 a	128 d
Standard + 4% WF 200	2425 a	495 a	136 e
Standard + 2% WF 600	2474 bc	498 b	116 b
Standard + 3% WF 600	2450 b	500 c	121 c
Standard + 4% WF 600	2436 ab	501 c	127 d
Standard + 2% WF 600/30	2473 bc	498 b	115 b
Standard + 3% WF 600/30	2449 b	500 c	121 c
Standard + 4% WF 600/30	2425 a	501 c	127 d

*wartości oznaczone różnymi literami w kolumnach różnią się istotnie przy poziomie $\alpha=0,05$

Należy przypomnieć, że chleb ten oprócz wyżej wymienionych pierwiastków został wzbogacony w prawie 3% zawartość włókna pokarmowego, co w znacznym stopniu zwiększa jego wartość dietetyczną. Jak bowiem wiadomo, zwiększenie udziału włókna pokarmowego, o 1 g w posiłku, zmniejsza wykorzystanie energii w pożywieniu o 0,17% [Bartnikowska, 1997 b].

Wnioski

1. Spośród stosowanych preparatów błonnikowych z łodyg pszenicy najbardziej korzystny okazał się 3% udział preparatu WF 600, który nie spowodował zmniejszenia masy chleba pszennego, w najmniejszym stopniu zmniejszył jego objętość oraz wpłynął na niewielkie zmniejszenie straty wypiekowej i zwiększenie wilgotności miękiszu, w porównaniu z chlebem standardowym.
2. Wszystkie zastosowane preparaty błonnikowe VITACEL z łodyg pszenicy nie pogorszyły oceny organoleptycznej chlebów z ich udziałem, w odniesieniu od chleba pszennego.
3. Ze względu na parametry tekstury miękiszu podczas przechowywania, najmniej korzystny okazał się preparat WF 200, niezależnie od jego procentowego udziału w chlebie.
4. Do ewentualnego praktycznego zastosowania zaleca się 3% udział preparatu błonnikowego WF 600, który nie wpływając drastycznie na zmiany parametrów jakości chleba pszennego, w znaczący sposób zwiększył w nim zawartość włókna pokarmowego oraz Ca, Mg i Fe.

Projekt został sfinansowany ze środków DS3709/KTW/2018

Literatura

1. Ambroziak W. (2012). Produkcja piekarsko-ciastkarska. Część I i II. WSiP, Warszawa.
2. Analiza zbóż i przetworów zbożowych (1983). Praca zbiorowa pod redakcją prof. dr hab. T. Jakubczyka i dr hab. T. Habera. Skrypt SGGW i AR w Warszawie.
3. AOAC (2006). Official methods and analysis, 18th ed. Gaithersburg: Association of Official Analytical Chemists International.
4. Bartnikowska E. (1997 a). Włókno pokarmowe w żywieniu człowieka. Część I. Przemysł Spożywczy 51, 5, 43-44 i 48.
5. Bartnikowska E. (1997 b). Włókno pokarmowe w żywieniu człowieka. Część II. Przemysł Spożywczy 51, 6, 14-16.
6. Bartnikowska E., Piesiewicz H. 1999. Rola produktów zbożowych w profilaktyce chorób nowotworowych. Przegląd Piekarski i Cukierniczy 47, 7, 2-3.
7. Brown L., Rosne B., Willett W.W., Snaks F.M. (1999). Cholesterol-Lowering effects of dietary fiber: a metas – analysis. American Journal of Clinical Nutrition, 69, 30-42.
8. Cygankiewicz A. (1997). Wartość technologiczna ziarna materiałów hodowlanych pszenicy ozimej i jarej na tle badań własnych i światowych. Biuletyn IHAR, 204, 219-235.
9. D' Appolonia B.L., Morad M.M. (1981). Bread staling, Cereal Chemistry. 58, 186-190.

10. Fik M. (2004). Czerstwienie pieczywa i sposoby przedłużania jego trwałości. *ŻYWNOŚĆ. Nauka. Technologia. Jakość* 2(39), 5-22.
11. Galisteo M., Duarte J., Zarzuelo A. (2008). Effects of dietary fibers on disturbances clustered in the metabolic syndrome. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 19, 71-84.
12. Gambuś H. (1997). Wpływ fizyczno-chemicznych właściwości skrobi na jakość i starzenie się pieczywa (badania modelowe). *Zeszyty Naukowe AR w Krakowie. Rozprawy nr 226*.
13. Gambuś H., Zięć G., Gibiński M., Pastuszka D., Nowakowski K. (2011). Wykorzystanie resztkowej mąki owsianej do wypieku chleba. *Zeszyty problemowe postępów nauk rolniczych*, 566, 49-60.
14. Gawęcki J., Roszkowski W. (2016). Rola produktów zbożowych w żywieniu ludzi zdrowych i chorych, w: *Produkty zbożowe. Technologia i rola w żywieniu człowieka*. (Gawęcki J., Obuchowski W. red.) Wydawnictwo UP w Poznaniu.
15. Górecka D., Anioła J. (2014). Charakterystyka składników bioaktywnych. *Błonnik pokarmowy*, w: *Żywność prozdrowotna składniki i technologia*. Wyd. Uniwersytetu Przyrodniczego, Poznań.
16. ICC - Standards 1995. *Standards Methods of the International Association for Cereal Science and technology (ICC)*. Printed by ICC - Vienna.
17. Kawka A. (2010). Współczesne trendy w produkcji piekarskiej – wykorzystanie owsa i jęczmienia jako zbóż niechlebowych. *Żywność, Nauka, Technologia, Jakość*, 3(70), 25-43.
18. MacMasters M.M. (1961). Starch research and baking. *The Bakers Digest* 36, 42-46.
19. Meyer P.D. (2004). Nondigestible oligosaccharides as dietary fiber. *Journal of the Association of Official Analytical Chemists International*, 87, 3, 718-726.
20. Piesiewicz H. (1996). Konsumpcja pieczywa w Polsce na tle nowoczesnych tendencji w żywieniu. Część I. Wartość energetyczna, znaczenie białka, błonnika i witamin. *Przegląd Piekarski i Cukierniczy*, 44, 3, 8-9.
21. PN - A -74108: 1996. *Pieczywo. Metody badań*, PKN, Warszawa.
22. Senti F.R., Dimler R.J. (1960). Changes in starch and gluten during ageing of bread. *The Bakers Digest*, 34, 28-33.
23. Zięć G., Gambuś H., Litwinek D., Nowotna A., Mikulec A. (2013). Ocena właściwości fizycznych pieczywa ze zróżnicowanym udziałem mąki owsianej, wypieczonego z ciasta prowadzonego bez udziału i z udziałem zakwasu żytniego. *Acta Agriophysica*, 20, 4, 721-734.

KATARZYNA MARCINIAK-ŁUKASIAK¹, ANNA ŻBIKOWSKA¹, MIROSLAVA KAČÁNIOVÁ²

¹*Zakład Technologii Tłuszczów i Koncentratów Spożywczych, Katedra Technologii Żywności,
Wydział Nauk o Żywności, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie
02-787 Warszawa ul. Nowoursynowska 159c;*

²*Slovak University of Agriculture in Nitra, Faculty of Biotechnology and Food Science,
Tr. Andreja Hlinku 2, 949 76 Nitra, Slovak Republik*

OCENA JAKOŚCI BATONÓW ZBOŻOWYCH Z DODATKIEM WYBRANYCH SUROWCÓW ODPADOWYCH PRZEMYSŁU OWOCOWEGO

Streszczenie

Celem pracy było wytworzenie batonów zbożowych z zastosowaniem surowców odpadowych przemysłu owocowego – wyłoków z jabłek i aronii i sprawdzenie wpływu tych dodatków na cechy smakowo-jakościowe produktów. W skład batonów zbożowych wchodziły wyłoki owocowe jabłka i aronii, w celu sprawdzenia ich wpływu na cechy smakowo-jakościowe produktów. Otrzymane batony poddano analizie organoleptycznej oraz fizykochemicznej: aktywność wody, zawartość wody, zawartość białka, zawartość tłuszczu, zawartość węglowodanów, siła cięcia. Batony z dodatkiem nasion ekspandowanych odznaczały się podobną zawartością białka, tłuszczu i węglowodanów w porównaniu z batonami wykonanymi z płatków instant. Zastosowanie wyłoków owocowych nadało produktowi końcowemu charakterystyczną dla wyłoków barwę. Na podstawie oceny pożądalności konsumenckiej stwierdzono, że batony z dodatkiem nasion ekspandowanych, które pozytywnie wpływają na ogólny wygląd i smak produktu, uzyskały lepsze noty w ocenie.

Słowa kluczowe: nasiona ekspandowane, wyłoki owocowe, batony zbożowe, pseudozboża.

Wstęp

W wyniku zwiększającej się liczby chorób cywilizacyjnych, konsumenci coraz większą uwagę zwracają nie tylko na walory smakowe żywności, ale również na zawartość składników prozdrowotnych [Sosińska i in., 2006, Jakubowski, 1995], których odpowiednia ilość w diecie ma sprzyjać zachowaniu dobrego stanu zdrowia [Bartnikowska, 2007].

Zboża oraz powstałe w wyniku ich przetwarzania produkty odznaczają się dużą zawartością składników odżywczych niezbędnych do prawidłowego funkcjonowania organizmu. Dostarczają one około 50% węglowodanów, a także około 30% białka i energii w dziennej racji pokarmowej. Stanowią one również cenne źródło substancji biologicznie czynnych m.in. witamin oraz antyoksydantów [Ceglińska, 2009].

Wyroby typu musli tworzą tzw. zbożową galanterię śniadaniową, w skład której wchodzi takie produkty jak płatki zbożowe, czy drobne chrupki w różnej formie. Zyskały one dużą popularność w krajach wysokorozwiniętych, głównie dzięki walorom smakowym oraz ze względu na ich właściwości dietetyczne [Mościcki, 1999].

Do zbożowej galanterii śniadaniowej zaliczane są również batony owocowo-zbożowe. Należą one do grupy żywności wygodnej (ready to eat), ponieważ nie wymagają obróbki termicznej przed spożyciem, a także są przygotowane, aby skosztować je w dowolnym momencie [Bohdan, 2009]. Są bogate w wiele składników odżywczych, w tym zboża, owoce, orzechy, błonnik pokarmowy, składniki mineralne oraz surowce wysokobiałkowe [Lobato i in., 2013], ponadto mogą być spożywane jako przekąska [Marciniak-Łukasiak i in., 2012].

Batony owocowo-zbożowe stanowią alternatywę dla tradycyjnych czekolad i batonów czekoladowych, które zawierają duże ilości kalorycznych składników tj. sacharozy oraz tłuszczu kakaowego. Ze względu na niską kaloryczność produktu i wysokie walory smakowe są coraz bardziej popularne, a ich spożycie wciąż wzrasta. Według Roberfroida [1999] batony zbożowe mogą być połączeniem wartości żywieniowych, wygody, ceny oraz cech sensorycznych, co stanowi ważne wyzwanie wobec wymagań obecnego konsumenta.

Dlatego celowym wydaje się wytworzenie batonów zbożowych z zastosowaniem surowców odpadowych przemysłu owocowego.

Materiały i metody badań

Surowcami wykorzystanymi do otrzymania batonów zbożowych były: płatki jaglane instant firmy Bio Planet, płatki komosy ryżowej instant firmy Bio Planet, płatki amarantusa instant firmy Szarłat, płatki owsiane firmy Badapak, orzechy laskowe firmy Badapak, nasiona słonecznika firmy Badapak, nasiona sezamu firmy Badapak, mąka ryżowa marki Melvit, mąka kukurydziana marki Dacsa, wyłoki owocowe z jabłka i aronii firmy Döhler. Natomiast jako spoiwo zastosowano mieszaninę syropu glukozowego firmy Barentz, cukru marki Diamant, maltodekstryny firmy Barentz, 96% roztworu glicerolu, POCH, 70% roztworu sorbitolu, POCH, lecytynę sojową, firmy Barentz, soli, firmy SOLINO SA oraz oleju kokosowego marki Targroch.

W zależności od wariantu batonów wzbogacano je dodatkiem ekspandowanych nasion prosa, komosy ryżowej i amarantusa firmy Soligrano. Wykonano dwie serie doświadczalne, w których sporządzono pięć wariantów batonów zbożowych. Warianty wytworzonych batonów różniły się stosunkiem płatków instant do nasion ekspandowanych.

W pierwszej serii batonów zbożowych zastosowano dodatek ekspandowanych nasion prosa kosztem płatków jaglanych instant w następujących kombinacjach: 100% płatków

instant (P 0), 75% płatków instant i 25% nasion ekspandowanych (P 25), 50% płatków instant i 50% nasion ekspandowanych (P 50), 25% płatków instant i 75% nasion ekspandowanych (P 75), 100% nasion ekspandowanych (P 100). Drugi i trzeci rodzaj batonów zbożowych wykonano analogicznie z zastosowaniem dodatków nasion ekspandowanych odpowiednio komosy ryżowej i amarantusa (tabela 1). Wymiary batonów wszystkich wariantów były takie same i wynosiły 8,5 x 3 x 1,5 cm.

Tabela 1. Skład recepturowy batonów zbożowych z dodatkiem w zależności od rodzaju i udziału zastosowanych ekspandowanych nasion i płatków instant

	Składniki suche		Kontrolna [g]	25 [g]	50 [g]	75 [g]	100 [g]
Receptura R1	ekspandowane nasiona	proso	0,00	1,27	2,54	3,81	5,08
Receptura R2		komosa					
Receptura R3		amarantus					
Receptura R1	płatki instant	jaglance	5,08	3,81	2,54	1,27	0,00
Receptura R2		z komosy					
Receptura R3		z amarantusa					
Składniki wspólne dla receptur R1, R2, R3	płatki owsiane		2,20	2,20	2,20	2,20	2,20
	orzechy laskowe		2,06	2,06	2,06	2,06	2,06
	mąka ryżowa		1,75	1,75	1,75	1,75	1,75
	mąka kukurydziana		1,75	1,75	1,75	1,75	1,75
	nasiona słonecznika		1,03	1,03	1,03	1,03	1,03
	nasiona sezamu		0,81	0,81	0,81	0,81	0,81
	proszek owocowy (wytłoki z jabłek i aronii)		1,92	1,92	1,92	1,92	1,92
R1 - skład recepturowy batonów zbożowych z dodatkiem nasion ekspandowanych proso							
R2 - skład recepturowy batonów zbożowych z dodatkiem nasion ekspandowanych komosy ryżowej							
R3 - skład recepturowy batonów zbożowych z dodatkiem nasion ekspandowanych amarantusa							

W gotowym produkcie oznaczano: wilgotność metodą znormalizowaną [Krełowska-Kułas, 1993], zawartość tłuszczu, metodą Soxhleta [PN-73/A-82111], białka ogółem metodą znormalizowaną [Krełowska-Kułas, 1993], oznaczenie zawartości węglowodanów na zasadzie metody obliczeniowej. Ponadto oznaczono instrumentalnie

siłę potrzebną do złamania batonów przy pomocy teksturometru TA-XT2i TextureAnalyser (Stable Micro Systems) oraz oceniono je sensorycznie. Panel osób oceniających składał się z 29 osób, a ocena organoleptyczna została przeprowadzona w oparciu o 10 punktową skalę ocen. Zespół osób oceniających przeszkolono oraz poinformowano o zasadach badania oraz wręczono arkusze oceny. Na podstawie arkusza oceny oceniono następujące parametry: wygląd, zapach, smak, twardość, żujność, akceptacja ogólna. Próbkę batonów zbożowych zostały zakodowane. Oznaczenie aktywności wody (a_w) wykonano za pomocą miernika aktywności wody Rotronic typ Hygroskop DT (Szwajcaria). Wytworzone batony poddano testowi przechowalniczemu w termostacie firmy POL-EKO APARATURA SP. J., w temp. 37°C przez 20 dni w opakowaniu z folii polietylenowej. W dniach 0, 5, 10, 15 i 20 wykonano oznaczenia parametrów tekstury, wilgotności oraz aktywności wody.

Otrzymane wyniki badań poddano analizie statystycznej w programie STATISTICA dla poziomu istotności $\alpha = 0,05$.

Wyniki i dyskusja

Aktywność wody określa stopień powiązania cząsteczek wody ze składnikami produktu. Świadczy o ilości wody dostępnej dla mikroorganizmów, co ma wpływ na jakość i trwałość produktów. Według Pałacha [2008] zakres aktywności wody (a_w), w którym większość drobnoustrojów jest w stanie się rozwijać wynosi od 0,990 do 0,995, natomiast powszechnie przyjmuje się, że drobnoustroje nie mogą rozwijać się w żywności o $a_w < 0,6$. Dla wszystkich batonów zbożowych wartość aktywności wody przyjmuje zakres od 0,462 dla batonu K 0 do wartości 0,203 dla batonu A 100 (tab. 2). Oznacza to, że wyprodukowane batony zbożowe były bezpieczne pod względem mikrobiologicznym. Warto zauważyć, że wraz ze wzrostem udziału nasion ekspandowanych wartość aktywności wody zmniejszała się np. dla batonu A0 aktywność wody w dniu 0 wynosi 0,422, a dla batonu A 100 – 0,285. Świadczy to o zdolności nasion ekspandowanych do lepszego wiązania wody.

Zawartość wody w wyprodukowanych batonach zbożowych w zależności od proporcji płatków instant do nasion ekspandowanych zmieniała się wraz ze wzrostem udziału preparowanych nasion. Największą zawartością wody charakteryzowały się batony z prób kontrolnych, we wszystkich trzech wariantach wynosiła ona powyżej 6% i stopniowo zmniejszała się do wartości ok. 4%, co mogło być spowodowane nieszczelnością opakowania. W wyniku przechowywania zawartość wody zmniejszała się do osiągnięcia wartości w przedziale od 2,590% dla batonu A 75 do 4,827% dla batonu kontrolnego z płatkami jaglanymi instant [tab. 3]. Niska zawartość wody pozwala na długie przechowywanie batonów bez ryzyka szybkiego ich zepsucia oraz rozwoju drobnoustrojów.

Tabela 2. Zmiany aktywności wody

Wariant batonu	Dzień 0	Dzień 5	Dzień 10	Dzień 15	Dzień 20
P 0	0,380 c	0,373 d	0,371 c	0,363 d	0,317 d
P 25	0,369 c	0,298 b	0,296 b	0,289 b	0,295 d
P 50	0,334 b	0,290 b	0,288 b	0,275 ab	0,264 c
P 75	0,334 b	0,284 b	0,277 ab	0,261 a	0,260 c
P 100	0,325 b	0,283 b	0,264 a	0,252 a	0,232 b
K 0	0,462 e	0,428 e	0,421 e	0,421 e	0,390 f
K 25	0,437 d	0,387 d	0,355 c	0,326 c	0,309 d
K 50	0,422 d	0,359 c	0,295 b	0,280 b	0,267 c
K 75	0,385 c	0,325 c	0,288 b	0,261 a	0,231 b
K 100	0,346 b	0,291 b	0,267 a	0,256 a	0,230 b
A 0	0,422 d	0,420 e	0,394 d	0,284 b	0,364 e
A 25	0,383 c	0,373 d	0,360 c	0,336 c	0,314 d
A 50	0,376 c	0,354 c	0,354 c	0,263 a	0,247 b
A 75	0,335 b	0,321 c	0,262 a	0,256 a	0,221 b
A 100	0,285 a	0,258 a	0,254 a	0,253 a	0,203 a

pierwsza litera wariantu odpowiada typowi dodatku: P – prosa, K – komosa, A – amarantus, liczba odpowiada udziałowi dodatku [g]

Wartości średnie o tym samym indeksie nie różnią się istotnie statystycznie dla $p \leq 0,05$

Na podstawie uzyskanych wyników (tab. 4) wykazano że zawartość białka ogółem w badanych batonach była się na podobnym poziomie. Największą zawartością białka charakteryzowały się batony ze 100% zawartością nasion ekspandowanych. Batony zawierające w swoim składzie płatki ekspandowane prosa, amarantusa i komosy zawierały odpowiednio 21,95 g/100 g, 21,78 g/100 g i 21,55 g/100 g. Spowodować to mogło nierównomierne rozprowadzenie nasion ekspandowanych i płatków instant w produkcji. Najniższą zawartość białka stwierdzono w przypadku próby kontrolnej z płatkami komosy ryżowej – K 0 (20,59 g/100 g) oraz batonu z dodatkiem 25% ekspandowanych nasion komosy ryżowej – K 25 (20,87 g/100 g).

Zawartość tłuszczu w wytworzonych batonach zbożowych zawierała się w przedziale 13,52-16,71 g/100 g [tab. 5]. Największą zawartością tłuszczu charakteryzował się baton A 0, który jako jedyny wykazał wartość powyżej 16 g/100 g. Najmniejsze wahania wartości wykazały batony wyprodukowane z nasion prosa, różnica między największą wartością dla batonu P 100 – 14,63 g/100 g, a batonem P 50 – 14,11 g/100 g wyniosła 0,52 g/100 g. Najmniejsza wartość tłuszczu została odnotowana dla batonu K 100, który jako jedyny ze wszystkich produktów uzyskał wartość poniżej 14 g/100 g.

Tabela 3. Zawartość wody [%]

Wariant batonu	Dzień 0	Dzień 5	Dzień 10	Dzień 15	Dzień 20
P 0	6,494 f	5,458 d	5,074 d	5,069 e	4,717 f
P 25	5,086 d	4,497 c	4,246 c	3,699 b	3,615 d
P 50	4,088 b	4,076 b	3,856 bc	3,734 b	3,278 bc
P 75	4,020 a	3,915 ab	3,705 b	3,68 b	3,325 c
P 100	4,009 a	3,902 a	3,690 b	3,494 ab	3,031 b
K 0	6,575 f	6,294 f	6,266 f	5,474 f	5,162 g
K 25	6,653 f	5,776 e	5,188 d	5,088 e	5,054 g
K 50	6,053 e	5,693 e	4,969 d	4,158 c	3,633 d
K 75	4,115 b	4,046 b	3,995 c	3,884 b	3,124 b
K 100	4,064 b	4,053 b	3,505 a	3,279 a	3,009 b
A 0	6,846 g	6,773 g	5,772 e	5,681 g	4,803 f
A 25	6,193 e	5,344 d	5,195 d	5,094 e	4,827 f
A 50	6,064 e	4,546 c	3,929 c	3,495 ab	2,706 a
A 75	4,553 c	4,413 c	3,941 c	3,376 a	2,590 a
A 100	4,055 a	3,777 a	3,745 b	3,326 a	2,547 a

pierwsza litera wariantu odpowiada typowi dodatku: P – proso, K – komosa, A – amarantus, liczba odpowiada udziałowi dodatku [g]

Tabela 4. Zawartość białka ogółem

Wariant batonu	Zawartość białka [g/100 g]	Zawartość tłuszczu [g/100 g]	Zawartość węglowodanów [g/100 g]
P 0	21,30 bc	14,39 b	59,24 c
P 25	21,10 b	14,36 b	60,84 c
P 50	21,05 b	14,11 b	60,77 c
P 75	21,63 c	14,44 b	60,23 c
P 100	21,95 e	14,63 bc	59,22 c
K 0	20,59 a	14,84 c	58,27 bc
K 25	20,87 ab	15,17 d	57,30 b
K 50	21,18 b	15,25 d	57,52 b
K 75	21,36 bc	14,84 c	59,76 c
K 100	21,55 c	13,52 a	61,92 d
A 0	21,55 c	16,71 e	54,89 a
A 25	21,12 b	15,20 d	57,49 b
A 50	21,48 c	14,96 cd	57,49 b
A 75	21,45 c	14,79 c	59,35 c
A 100	21,78 d	14,52 b	59,93 c

pierwsza litera wariantu odpowiada typowi dodatku: P – proso, K – komosa, A – amarantus, liczba odpowiada udziałowi dodatku [g]

Wartości średnie o tym samym indeksie nie różnią się istotnie statystycznie dla $p \leq 0,05$

Węglowodany stanowią główną część składu odżywczego wszystkich zbóż. Zawartość węglowodanów w badanych batonach zbożowych kształtowała się w przedziale od 54,89 g/100 g do 61,92 g/100 g. Największą zawartość węglowodanów według tabeli 5 odnotowano dla batonów zawierających w swoim składzie 100% nasion ekspandowanych komosy ryżowej – 61,92 g/100 g, zaś najmniejszą w przypadku batonu kontrolnego z płatków amarantusa.

Maksymalna siła cięcia batonów zbożowych w dniu 0 wymagała niewielkiego nakładu siły i zawierała się w przedziale od 15,96 N do 80,57 N. Największy nakład siły na początku badania potrzebny do przełamania odnotowano dla batonu P 75 – 80,57 N, a najmniejszy dla batonu A 100 – 15,96 N. W przypadku dodatku nasion amarantusa siła potrzebna do złamania tych batonów malała wraz ze wzrostem dodatku amarantusa, poza próbą A 50, co jest zgodne z badaniami Marciniak-Łukasiak i wsp. [2012]. W wyniku przechowywania batonów zwiększała się wartość siły potrzebna do ich przełamania. Największą różnicę odnotowano pomiędzy dniem 0 a 5 dniem. W przypadku większości batonów siła potrzebna do złamania tych batonów miała wartość ponad 100 N, za wyjątkiem P 0 – 77,13 N, A 0 - 64,30 N oraz A 25 – 87,86 N. Nacisk na batony potrzebny do ich przełamania nie był równomierny, największy opór odnotowano na obu końcach batonów. W ostatnim dniu odnotowano bardzo wysokie wartości siły potrzebnej do przełamania, które osiągały wartości nawet powyżej 550 N w batonach P 50 (tab. 5).

W ocenie organoleptycznej najwyższe noty za zapach uzyskały batony z udziałem nasion amarantusa. Najwyższą ocenę spośród wszystkich batonów uzyskał baton A 25 – 8,63 pkt. Najślabiej ocenionym pod względem tego wyróżnika jakości został oceniony baton P 50, ponieważ uzyskał jedynie 4,50 pkt (rys. 1).

Najlepszym smakiem charakteryzowały się batony z większą zawartością ekspandowanych nasion amarantusa. Najwyższa ocena została przyznana dla batonów z udziałem 100% ekspandowanych nasion amarantusa. W kwestionariuszu oceny zapytano również oceniających o rodzaj wyczuwalnego smaku, w celu oceny czy obecność wytlóków owocowych powoduje wyczuwalność owocowej nuty aronii jabłka. Wśród oceniających nikt nie zaznaczył wycucia smaków odpowiadającym użytym wytlókom oraz pozostałym składnikom. Większość ankietowanych zaznaczyła jedynie smak słodki, a także miała trudności z określeniem składu batonów.

Tabela 5. Maksymalna siła cięcia batonów zbożowych [N]

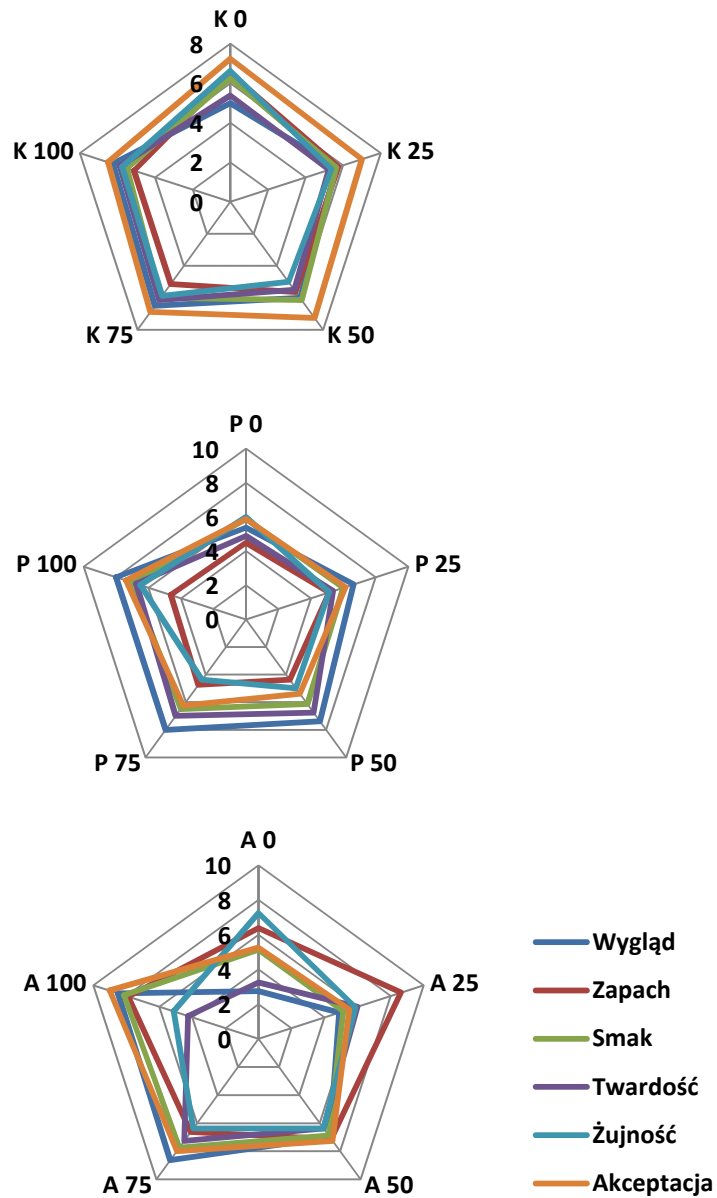
Wariant batonu	Dzień 0	Dzień 5	Dzień 10	Dzień 15	Dzień 20
P 0	22,06 c	77,13 a	148,63 b	223,43 a	249,45 c
P 25	46,45 g	295,24 e	318,81 e	339,86 d	424,78 f
P 50	45,21 g	284,87 e	339,08 e	419,63 f	551,91 h
P 75	80,57 i	231,06 d	140,46 b	203,11 b	244,52 c
P 100	67,21 h	226,04 d	211,70 cd	208,63 b	358,85 e
K 0	20,21 bc	107,26 b	87,20 a	102,32 a	155,60 b
K 25	30,95 e	123,35 b	174,25 c	207,90 b	289,50 d
K 50	35,96 f	191,59 c	324,89 e	331,61 d	401,70 f
K 75	27,55 d	370,48 f	324,12 e	313,88 d	364,83 e
K 100	18,99 b	267,53 e	185,49 c	280,50 c	287,87 d
A 0	17,08 a	64,30 a	81,81 a	92,20 a	108,44 a
A 25	16,67 a	87,86 a	179,78 c	173,17 b	331,41 e
A 50	33,56 f	241,76 d	378,68 f	395,99 e	467,24 g
A 75	17,78 ab	146,93 b	244,68 d	276,10 c	283,85 d
A 100	15,96 a	194,05 c	171,86 c	181,74 b	168,95 b

Pierwsza litera wariantu odpowiada typowi dodatku: P – proso, K – komosa, A – amarantus, liczba odpowiada udziałowi dodatku [g]

Wartości średnie o tym samym indeksie nie różnią się istotnie statystycznie dla $p \leq 0,05$

Twardość batonów zbożowych według oceniających, wzrastała wraz ze zwiększeniem udziału nasion ekspandowanych w produkcie. Wyjątkiem według oceniających była twardość batonu A 100 – 4,25 pkt., którego wartość była najniższa wśród wszystkich ocenianych produktów.

Najwyżej oceniany pod względem ogólnej akceptacji był baton A 100, który w skali od 1 do 10 otrzymał 9 pkt., zaś najmniej pożądanym był baton A 0 – 5,25 pkt. Najmniejsze różnice w ilości punktów zostały odnotowane dla batonów z komosy ryżowej. Ogólna akceptacja wszystkich pięciu wariantów batonu znajdowała się w zakresie 7 pkt. Statystycznie próby kontrolne otrzymały najniższe oceny pod względem ogólnej akceptacji, jednak w przypadku batonu kontrolnego ze 100% udziałem płatków komosy ryżowej instant otrzymał on najwyższą ocenę, podobnie jak baton, w którym udział płatków instant i nasion ekspandowanych wynosił 50/50 – 7,25 pkt.



Rysunek 1. Wyniki oceny organoleptycznej batonów (pierwsza litera wariantu odpowiada typowi dodatku: P – proso, K – komosa, A – amarantus, liczba odpowiada udziałowi dodatku [g]).

Najwyższą ocenę za wygląd ogólny przyznano dla batonu z udziałem nasion ekspandowanych amarantusa 8,63 pkt 9 (rysunek 3), następnie batony z udziałem

ekspandowanych nasion prosa P 75 i P 100 – 8 pkt, a baton z udziałem K 75 został oceniony na 6,5 pkt. Najniżej zostały ocenione batony kontrolne P 0, K 0 i A 0 odpowiednio 6,63 pkt., 5 pkt. i 2,75 pkt. Spośród batonów z użyciem tego samego pseudozboża, największą różnicę odnotowano dla batonów z udziałem amarantusa, w których różnica między batonem najlepiej i najgorzej ocenionym wynosiła aż 5,93 pkt. Ocena wyglądu batonów z udziałem komosy ryżowej (rysunek 1) odznaczała się najmniejszą różnicą, ponieważ między najlepszym a najgorszym batonem wynosiła ona jedynie 1,5 pkt. Warto zauważyć, że wraz ze wzrostem udziału nasion ekspandowanych, wzrastała również liczba punktów przyznanych za ten wyróżnik. Batony wraz ze wzrostem zawartości nasion ekspandowanych zmieniały swoją barwę, na którą mógł mieć wpływ dodatek wyłoków aroniowych.

Wnioski

1. Zawartość białka w batonach zbożowych wytworzonych z nasion ekspandowanych jak i z nasion płatków instant była na podobnym poziomie.
2. Dodatek nasion ekspandowanych powodował obniżenie zawartości tłuszczu w batonach zbożowych.
3. Zastosowanie nasion ekspandowanych do produkcji batonów zbożowych powodowało obniżenie aktywności wody w końcowym produkcie.
4. Przechowywanie batonów zbożowych w temperaturze 37°C powodowało zwiększenie ich twardości, co oznacza potrzebę większego nakładu siły potrzebnego do przełamania batonów.
5. Batony z udziałem nasion ekspandowanych były według przeprowadzonej, oceny organoleptycznej bardziej pożądane przez konsumentów.

Literatura

1. Bartnikowska E. (2007). Dodatki do pieczywa o działaniu prozdrowotnym. *Przegląd Piekarski i Cukierniczy*, 55, 8, 4-9.
2. Bohdan M. (2009). Wałory zdrowotne wyrobów typu musli, *Przegląd Piekarski i Cukierniczy*, 57, 7, 70, 72-73.
3. Lobato L.P., Pereira A.M., Lazaretti M.M., Barbosa D.S., Carreira C.M., Marcos J., Mandarino G., Eiras Grossmann W.M. (2012). Snack bars with high soy protein and isoflavone content for use in diets to control dyslipidaemia. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 63 (1), 49-58.
4. Krełowska-Kułas M. (1993). Badanie jakości produktów spożywczych. PWE, Warszawa.
5. Marciniak-Łukasiak K., Żbikowska A., Lisiecka O. (2012). Wpływ dodatku białek sojowych oraz amarantusa na jakość batonów zbożowych. *Bromatologia i Chemia Toksykologiczna*, XLV(3), 1128-1134.
6. Mościcki L. (1999). Ekstruzja i jej zastosowanie w przetwórstwie rolno-spożywczym. Część. 3. Produkcja zbożowej galanterii śniadaniowej. *Przegląd Zbożowo-Młynarski*, 3, 7-9.
7. Pałacha Z. (2008). Aktywność wody ważny parametr trwałości żywności. *Przemysł Spożywczy*, 4, 22-26.

8. PN-73/A-82111. Oznaczenie zawartości tłuszczu.
9. PN-75/A-04018 Produkty rolniczo-żywnościowe - Oznaczanie azotu metodą Kjeldahla i przeliczanie na białko.
10. Roberfroid M.B. (1999). Concepts in functional foods: the case of inulin and oligofructose. *The Journal of Nutrition*, 1398-1401.
11. Sosińska E., Terlicka K., Krygier K. (2006). Żywność funkcjonalna w opinii polskich i belgijskich konsumentów. *Przemysł Spożywczy*, 60 (10): 49-54.
12. Jakubowski A. (1995). Funkcjonalne produkty spożywcze. *Przemysł Spożywczy*. 49 (11), 416-417.

PAULINA NOWICKA¹, MONIKA GŁADZIK¹, ANETA WOJDYŁO¹, JAN OSZMIAŃSKI¹

¹*Katedra Technologii Owoców, Warzyw i Nutraceutyków Roślinnych,
Wydział Biotechnologii i Nauk o Żywności, Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu*

PESTKA WIŚNI – SUROWIEC ODPADOWY O WYSOKIM POTENCJALE PROZDROWOTNYM

Wstęp

Według danych statystycznych opublikowanych przez Organizację Narodów Zjednoczonych do spraw Wyżywienia i Rolnictwa, światowa produkcja owoców wiśni w 2014 roku kształtowała się na poziomie 1,36 mln ton, z czego około 176 tysięcy ton tych owoców wyprodukowano w Polsce. Średnio 70% zbiorów wiśni kierowanych jest do celów przetwórczych, a głównymi sposobami ich wykorzystania są: produkcja mrozonek oraz koncentratów, soków, a także nektarów, dżemów, konfitur i alkoholi oraz syropów [Nowicka i in., 2013].

W większości kierunków przemysłowego przerobu wiśni, pestki są usuwane i stają się produktem ubocznym [Kowalczyk i Piwnicki, 2007]. Biorąc pod uwagę, że pestka wiśni stanowi, w zależności od odmiany, od 8 do 15% masy całego owocu [Yilmaz i Gökmen, 2013], rocznie na świecie powstaje kilkadziesiąt tysięcy ton odpadów, które obecnie wykorzystywane są w niewielkim stopniu. Tymczasem w świetle przepisów może on bez przeszkód zostać przekazany lub sprzedany osobie fizycznej albo jednostce organizacyjnej na ich własne potrzeby, w tym także do dalszego przerobu [Kowalczyk i Piwnicki, 2007; Yilmaz i Gökmen, 2013].

Obecnie pestki wiśni bywają wykorzystywane jako ekologiczne biopaliwo o wysokiej wartości opałowej. Jednakże ze względu na ograniczoną dostępność surowca oraz konieczność wprowadzania zmian konstrukcyjnych umożliwiających dostosowanie pieców do opalania pestkami, rozwiązanie to nadal nie jest powszechnie stosowane [Kaynak i in., 2005]. Pestki wiśni po oczyszczeniu z pozostałości miąższu i wysuszeniu, znajdują również zastosowanie jako wypełnienie w pluszowych zabawkach oraz w tak zwanych suchych termoforach, ogrzewanych za pomocą promieniowania mikrofalowego – ze względu na ich zdolność do powolnego i równomiernego oddawania ciepła oraz brak właściwości uczulających [Kowalczyk i Piwnicki, 2007].

Innym sposobem na zagospodarowanie pestek wiśni, jest ich wykorzystanie jako wartościowego ligninocelulozowego surowca do produkcji węgla aktywowanego. Węgiel aktywny otrzymywany z pestki wiśni wykorzystywany jest w przemyśle spożywczym do usuwania ochratoksyny A w produkcji czerwonego wina, przy jednoczesnym zachowaniu w produkcie związków polifenolowych [Olivares-Marín i in., 2009]. Skorupy pestek bywają także w niewielkich ilościach dodawane do pasz przeznaczonych dla trzody

chlewnej w celu wzbogacenia diety zwierząt w błonnik pokarmowy i składniki mineralne [Kowalczyk i Piwnicki, 2007].

Znajdują one także zastosowanie w przemyśle kosmetycznym – oddzielone od jądra, a następnie rozdrobnione skorupy, z uwagi na dobre właściwości cierne, dodawane są do kosmetyków złuszczących naskórek [Kowalczyk i Piwnicki, 2007]. Dodatkowo, dużą wartość dla przemysłu kosmetycznego stanowi, bogaty w nienasycone kwasy tłuszczowe i tokoferole, olej uzyskiwany z pestek, wykazujący właściwości przeciwzmarszczkowe oraz chroniące skórę przed promieniowaniem UV [Tósaki i in., 2008]. Obecnie jednak, wraz ze wzrostem wiedzy na temat składników zawartych w pestkach wiśni i ich potencjalnych właściwości prozdrowotnych, duże zainteresowanie budzi możliwość ich wykorzystania do spożycia przez ludzi, szczególnie w celu wzbogacenia diety o związki korzystne w profilaktyce chorób przewlekłych [Bak i in., 2010].

Dlatego też celem niniejszej pracy była analiza składu chemicznego pestek wiśni, ze szczególnym uwzględnieniem związków biologicznie aktywnych, a także ocena ich potencjału prozdrowotnego.

Materiał i metodyka

Materiał badawczy stanowiło 11 odmian pestek wiśni tj.: Ametyst, D3-140, Fanal, Karneol, Kelleris 14, Łutówka, North Star, Pandyl103, Turgieniewka, Wanda, W11/02, a także mieszanka pestek różnych odmian. Owoce wiśni pochodziły ze Stacji Doświadczalnej Oceny Odmian w Zybiszowie koło Wrocławia i zebrane zostały w stanie pełnej dojrzałości konsumpcyjnej.

W badanym materiale przeprowadzono jakościową (LC/MS – QToF) i ilościową (UPLC) analizę zawartości związków polifenolowych według metody opisanej przez Wojdyło i in. [2014], a także oznaczono zawartość glikozydów cyjanogennych (metoda własna - UPLC). Ponadto wyznaczono pojemność przeciwutleniającą badanych pestek z wykorzystaniem rozworu kationorodnika ABTS^{•+} [Re i in., 1999], metodą ORAC [Ou i in., 2001] oraz metodą FRAP [Benzie i Strain, 1996].

Skład chemiczny pestki wiśni

Pestka wiśni zbudowana jest z dwóch zasadniczych części: skorupy, stanowiącej około 74-77% masy oraz jądra, odpowiadającego średnio za 23-26% masy pestki [Kamel i Kakuda, 1992; Yilmaz i Gökmen, 2013].

Głównym składnikiem pestki wiśni, stanowiącym średnio 60% jej suchej masy, jest nierozpuszczalny błonnik pokarmowy, w którego skład wchodzi głównie celuloza oraz ligniny. Błonnik w pestce wiśni zlokalizowany jest przede wszystkim w skorupie, nadając jej charakterystyczne cechy, takie jak: twardość oraz wytrzymałość na uszkodzenia mechaniczne [Rodriguez i in., 2006].

Poza błonnikiem pokarmowym, w skorupie pestki obecne są także stosunkowo niewielkie (do 5% masy pestki) ilości węglowodanów, białek oraz tłuszczu. Skorupa pestki stanowi natomiast bogate źródło substancji mineralnych (średnio 2-2,5% masy), spośród których dominują: wapń (125 mg/100 g sm.) oraz magnez (50 mg/100 g sm.), a także: fosfor, żelazo oraz miedź [Kamel i Kakuda, 1992].

Jądro pestki charakteryzuje się wyższą niż w skorupie zawartością węglowodanów, białka i tłuszczu, natomiast błonnik pokarmowy występuje w mniejszych ilościach i stanowi około 30% masy jądra. W jądrze pestki dominującym składnikiem mineralnym jest potas (około 450 mg/100 g jądra), obecne są także witaminy: B₃, B₁, B₆ oraz witamina E [Yilmaz i Gökmen, 2013].

Jądra pestki wiśni charakteryzują się stosunkowo wysoką (17-36%) zawartością tłuszczu w porównaniu z innymi surowcami oleistymi, takimi jak: soja (18-20%), kukurydza (3,1-5,7%) czy oliwki (15-35%). Z tego względu w ostatnim czasie pestki wiśni rozpatrywane są jako potencjalnie wartościowy surowiec dla przemysłu olejarskiego [Özcan i in., 2014]. Znaczny udział nienasyconych kwasów tłuszczowych w składzie oleju z pestek wiśni oraz obecność składników bioaktywnych – tokoferoli, steroli oraz skwalenu – wskazują na jego wysoką wartość odżywczą. Obecnie jednak nie jest powszechnie stosowany olejem spożywczym, a wykorzystywany jest przede wszystkim w produkcji kosmetyków [Tósaki i in., 2008].

Zawartość związków polifenolowych w pestkach wiśni

Polifenole stanowią liczną (ponad 8000) grupę związków będących wtórnymi metabolitami roślin, różniących się między sobą strukturą chemiczną, masą cząsteczkową oraz właściwościami fizycznymi, chemicznymi i biologicznymi. Ich zawartość w poszczególnych częściach rośliny zależy od jej odmiany, sposobu uprawy oraz panujących warunków klimatycznych, stopnia dojrzałości a także ekspozycji na światło [Pandey i Rizyi, 2009]. Badania epidemiologiczne wielokrotnie wskazywały wpływ diety bogatej w polifenole na zmniejszenie ryzyka występowania chorób przewlekłych u ludzi. Przede wszystkim, związki te są silnymi przeciwutleniaczami, dzięki czemu mogą chronić składniki komórek przed uszkodzeniami oksydacyjnymi, a tym samym ograniczać ryzyko wielu chorób zwyrodnieniowych związanych ze stresem oksydacyjnym [Haminiuk i in., 2012].

Badania własne (Tabela 1) oraz innych autorów [Bak i in., 2010], wykazały obecność kilkunastu różnych związków polifenolowych, w tym: z grupy antocyjanów, kwasów fenolowych, flawonoli i flawan-3-oli, w pestkach wiśni. Dotychczas w surowcu tym zidentyfikowano 12 różnych związków polifenolowych. Stwierdzono między innymi obecność pochodnej cyjanidyny w postaci 3-rutynozydu, dwa dimery flawan-3-oli (procyjanidyna A2 oraz B1) oraz jeden monomer ((-)-

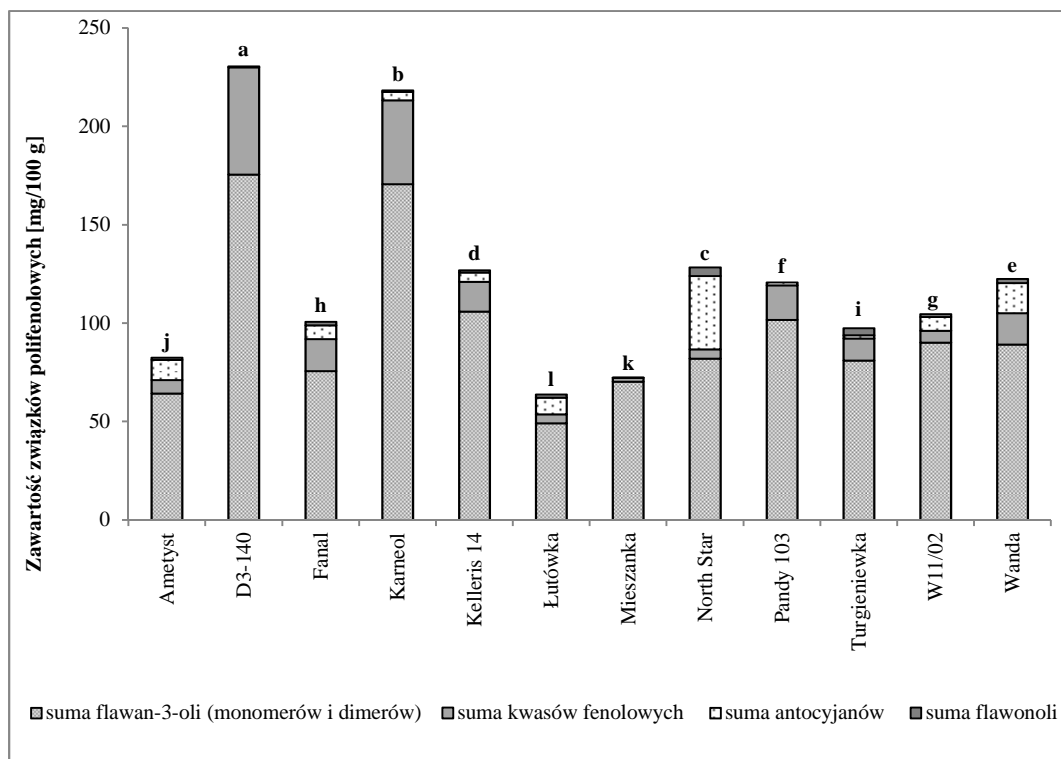
epikatechina). Ponadto zidentyfikowano pochodne kwercytyny, izoramnetyny i kempferolu oraz 5 pochodnych kwasu kawowego tj.: chlorogenowy, neochlorogenowy, kryptochlorogenowy i dikawoilochinowy, a także kwas *p*-kumarylochinowy. Skład związków polifenolowych oznaczony w pestkach wiśni jest zbliżony profilem do tego, który występuje w owocach wiśni, natomiast ich stężenie jest zupełnie inne, szczególnie w odniesieniu do antocyjanów, których w pestce oznaczono śladowe ilości (Rysunek 1).

Tabela 1. Związki polifenolowe zidentyfikowane w pestkach wiśni [na podstawie własnych wyników badań]

Nazwa związku	t_r [min]	Λ_{max} [nm]	[M – H] ⁺ [m/z]	
			MS	MS/MS
Antocyjany				
3-rutynozyd cyjanidyny	4,23-4,26	242/279/517	595,1664+	499,1063/ 287,0571
Kwasy fenolowe				
Kwas neochlorogenowy	3,21-3,24	323	353,0840	191,0524
Kwas 3- <i>p</i> -kumarylochinowy	3,80-3,81	310	337,0899	191,0524 /183,0112
Kwas chlorogenowy	3,92-3,98	324	353,0840	191,0524
Kwas kryptochlorogenowy	4,12-4,14	315	335,0770	191,0524 /173,0446
Kwas 3,5-dikawoilochinowy	8,15-8,16	326	515,1196	353,0879/ 191,0524 /173,0446
Flawan-3-ole (monomery i dimery)				
Procyjanidyna B1	3,39-3,42	278	577,1349	289,0758
(-)-epikatechina	5,12-5,13	278	289,0688	
Procyjanidyna A2	7,82-7,86	278	577,1349	289,0758
Flawonole				
3-rutynozyd kwercytyny	5,42-5,43	254/352	609,1483	577,4071/ 301,0319
3-rutynozyd kempferolu	7,44-7,45	264/347	593,1507	285,0394
3-rutynozyd izoramnetyny	7,72	253/352	623,1598	315,0512 /183,0167

W badaniach własnych wykazano, że średnia zawartość antocyjanów w badanych pestkach wiśni kształtowała się na poziomie 8,1 mg/100 g. Niska, w porównaniu z owocem, zawartość antocyjanów w pestce prawdopodobnie wynika z niewielkiego stopnia migracji tych związków w głąb pestki. Najmniejszy udział w badanych pestkach wiśni miały substancje z grupy flawonoli, których średnia zawartość w tym surowcu wynosiła 1,56 mg/100 g (około 1% polifenoli ogółem). We wszystkich przebadanych odmianach, flawan-3-ole stanowiły dominującą frakcję związków

polifenolowych (od 65% do 93% polifenoli ogółem), kształtując tym samym średnią zawartość polifenoli w pestkach wiśni na poziomie 122,47 mg/100 g. Stężenie związków polifenolowych w pestkach wiśni jest więc porównywalne do tego oznaczonego w jabłkach (132 mg/100 g), czereśniach (109,83 mg/100 g), pomidorach (62 mg/100 g) czy gruszkach (47 mg/100 g) [Cieślik i in., 2006].



Rysunek 1. Zawartość związków polifenolowych w pestkach wiśni różnych odmian [na podstawie własnych wyników badań] a-l – grupy jednorodne według testu Duncana

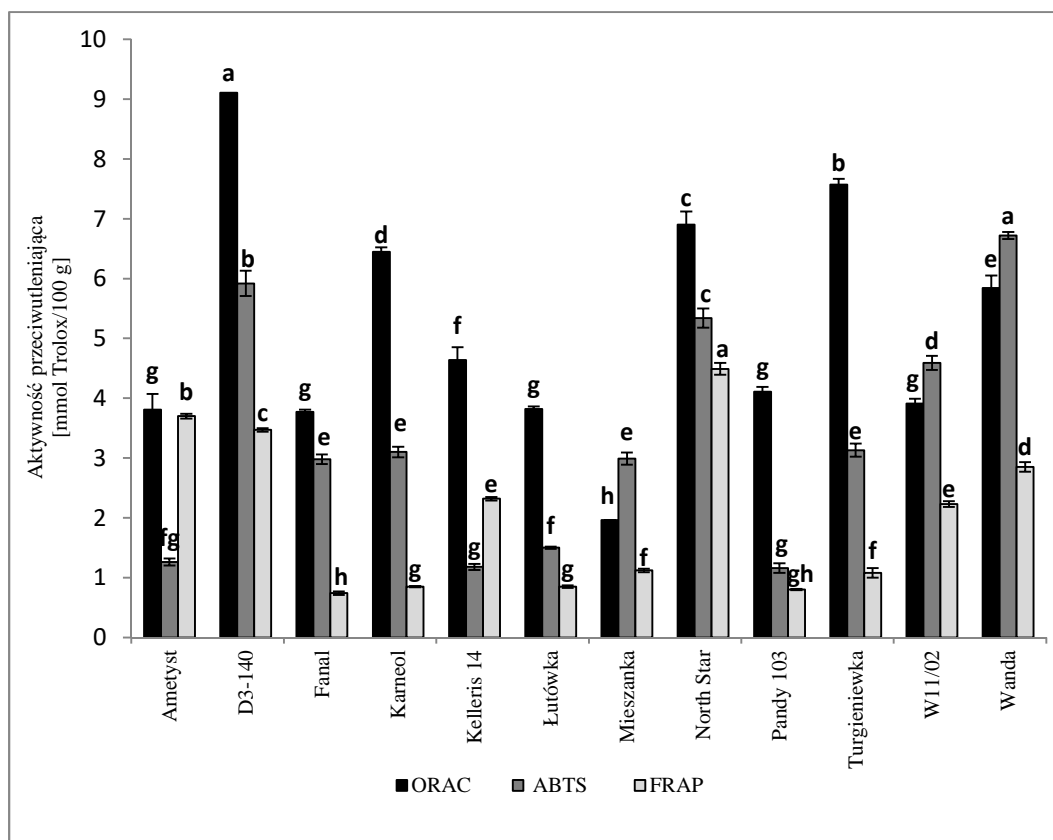
Wartość odżywcza i właściwości prozdrowotne pestek wiśni

Pierwsze doniesienia dotyczące potencjalnych prozdrowotnych właściwości pestek wiśni dotyczyły ich korzystnego oddziaływania na układ krążenia. Wykazano, że ekstrakt z pestki wiśni u szczurów pozwala na zmniejszenie wielkości zmian martwiczych (zawału), powstających w mięśniu sercowym na skutek jego niedokrwienia [Czompa i in., 2014]. Dodatkowo, u szczurów suplementowanych ekstraktem z pestek wiśni, krążenie krwi w nieuszkodzonych po zawale częściach serca powracało znacznie szybciej w porównaniu z grupą kontrolną [Bak i in., 2010]. Otrzymane wyniki zwróciły uwagę na pestkę wiśni jako potencjalne źródło substancji bioaktywnych i zapoczątkowały badania nad jej wartością odżywczą oraz właściwościami prozdrowotnymi. Większość

przeprowadzonych do tej pory badań skupia się jednak na oleju uzyskiwanym z pestek wiśni, którego skład i właściwości zostały dobrze scharakteryzowane z uwzględnieniem wielu odmian tych owoców.

Obecnie istnieje niewiele badań poświęconych innym związkom bioaktywnym zawartym w pestkach. Badania własne wskazują jednak, że pestki wiśni różnych odmian wykazują silne właściwości przeciwutleniające (Rysunek 2). W badanych pestkach wiśni wysoką aktywność przeciwutleniającą oznaczono między innymi dla odmian: Wanda (metoda ABTS – 4,17 mmol Trolox/100 g) oraz North Star (metoda FRAP – 3,21 mmol Trolox/100 g), które charakteryzowały się stosunkowo niską zawartością związków polifenolowych. Podobne zjawisko zaobserwowali również Usenik i in. [2008] w niektórych odmianach czereśni. Pomimo tego, dla większości badanych pestek wykazano dodatnią korelację pomiędzy aktywnością przeciwutleniającą mierzoną metodą ORAC, a zawartością związków polifenolowych ($PC = 0,731$). Według przeprowadzonych badań pojemność przeciwutleniającą pestek wiśni kształtowały również zawarte w badanym surowcu glikozydy cyjanogenne ($PC = 0,789$).

Aktywność przeciwutleniająca badanych pestek była zbliżona do wartości uzyskanych metodą ABTS w różnych odmianach owoców wiśni przez Khoo i in. [2011], gdzie wynosiła ona od 0,9 do 6,3 mmol Trolox/100 g. Picariello i in. [2016] dla owoców wiśni metodami ORAC i ABTS również oznaczyli aktywność przeciwutleniającą na poziomie zbliżonym do badanych pestek (kolejno: 0,91 mmol Trolox/100 g – 3,89 mmol Trolox/100 g oraz 0,58 mmol Trolox/100 g – 1,69 mmol Trolox/100 g). Wysoka aktywność przeciwutleniająca badanych pestek w porównaniu z owocem, mimo niższej zawartości związków polifenolowych, mogła być spowodowana zarówno różnicami w składzie i wzajemnych proporcjach tych związków, jak również obecnością w pestkach glikozydów cyjanogennych. Pestki wiśni, podobnie jak innych owoców z rodziny Rosaceae, zawierają amidalinę, która - spożyta w dużych dawkach – jest toksyczna dla organizmu. Jednak może ona również wykazywać właściwości lecznicze: przeciwbakteryjnie, przeciwzapalnie, oraz, jak dowiedziono w badaniach *in vitro* na ludzkich komórkach rakowych, także przeciwnowotworowe [Li i in., 2015].



Rysunek 2. aktywność przeciwutleniająca pestek wiśni różnych odmian mierzona trzema metodami: ORAC, ABTS i FRAP [na podstawie własnych wyników badań] a-h – grupy jednorodne dla wyników uzyskanych tą samą metodą według testu Duncana

Amigdalina – kontrowersyjny związek pestek wiśni

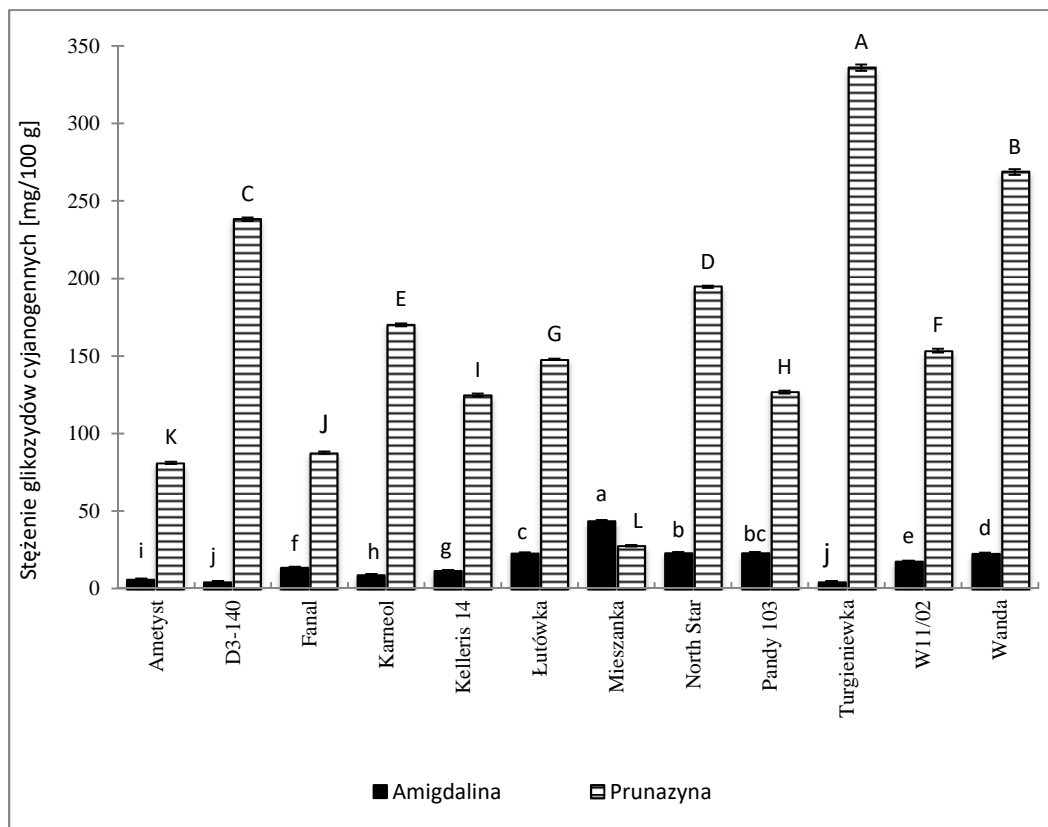
Pestki wiśni zawierają potencjalnie niebezpieczną dla organizmu amigdalinę – substancję z grupy glikozydów cyjanogennych. Do tej grupy związków zalicza się także: prunazynę (pochodna amigdaliny zawierająca jedną cząsteczkę glukozy, obecna w pestkach owoców), durynę (obecna w niektórych odmianach sorgo), linamarynę (w nasionach lnu), fazeolunatynę (w fasoli półksiężycowatej), sambunigrinę (w niedojrzałych owocach oraz szypułkach czarnego bzu) oraz wicjaninę (w wyce ptasiej). Ich rola biologiczna nie jest dokładnie poznana. Stanowią one metabolity wtórne roślin, które prawdopodobnie służyć mogą jako substancja mająca za zadanie chronić roślinę przed zjedzeniem przez zwierzęta [Vetter, 2000]. Cechą charakterystyczną tych związków jest zdolność do uwalniania cyjanowodoru na skutek uszkodzenia tkanek roślinnych w obecności wody (na przykład podczas

zucia pestek). Wówczas obecny w pestce enzym β -glukozydaza powoduje rozkład amigdaliny do cyjanowodoru, aldehydu benzoowego i dwóch cząsteczek glukozy.

Mechanizm działania cyjanowodoru na organizm polega na blokowaniu procesu oddychania komórkowego w mitochondriach. Objawami zatrucia są: zawroty głowy, osłabienie, nudności, wymioty, biegunka, drgawki, śpiączka, a w skrajnych przypadkach śmierć. Dawka śmiertelna cyjanowodoru dla człowieka wynosi 0,5-3,5 mg/kg masy ciała [Chaouali i in.; 2013].

W ostatnim czasie dużą uwagę zwraca się na potencjalne korzystne działanie amigdaliny w zapobieganiu a nawet leczeniu chorób nowotworowych. Mimo, że spożywana w dużych ilościach wykazuje właściwości toksyczne, przypuszcza się, że w mniejszych dawkach wykazywać może działanie prozdrowotne – przeciwzapalne oraz przeciwbólowe. Syntetyczna pochodna amigdaliny stanowiła główny składnik dostępnego w latach 70' XX wieku przeciwnowotworowego leku *Laerile*, który został wycofany ze względu na brak wiarygodnych badań klinicznych potwierdzających jego skuteczność, przy jednoczesnym dużym ryzyku zatrucia. Obecnie jednak amigdalina ponownie budzi zainteresowanie ze względu na obiecujące wyniki badań przeprowadzanych *in vitro* – wykazano między innymi, że amigdalina wywołuje apoptozę (śmierć) ludzkich komórek raka szyjki macicy [Chen i in., 2013], blokuje wzrost ludzkich komórek pęcherza moczowego [Makarević i in., 2014]. W badaniach *in vivo* na gryzoniach stwierdzono również jej skuteczność w niszczeniu komórek raka płaskonabłonkowego [Nour i in., 2016].

Z badań własnych, przedstawionych na Rysunku 3, wynika, że w większości odmian pestek wiśni, dominującym glikozydem cyjanogennym jest prunazyna, której najwyższe stężenie oznaczono w odmianie Turgieniewka (336 mg/100 g), a najniższe (27,57 mg/100 g) w mieszance różnych odmian pestek. Jednocześnie, spośród wszystkich przebadanych pestek, mieszanka charakteryzowała się najwyższą (43,61 mg/100 g) zawartością amigdaliny, natomiast najniższe stężenie tego związku (4,58 mg/100 g) oznaczono w pestkach odmian Turgieniewka oraz D3-140. Zawartość amigdaliny w badanych pestkach wiśni była mniejsza niż oznaczona przez Bolarinwę i in. [2014] w pestkach innych owoców z rodziny Rosaceae, między innymi: moreli (1437 mg/100 g), brzoskwini (681 mg/100 g), czereśni (389 mg/100 g), jabłka (296 mg/100 g), gruszki (119 mg/100 g) oraz fioletowej czy czerwonej śliwki (odpowiednio 216 mg/100 g oraz 44 mg/100 g), co przy jej właściwościach silnie toksycznych wydaje się cechą pozytywną.



Rysunek 3. Stężenie amigdaliny i prunazyny w badanych odmianach pestek wiśni [na podstawie własnych wyników badań] a-k; A-L – grupy jednorodne według testu Duncana

Podsumowanie

Powyższe dane wskazują, że pestki wiśni to atrakcyjny surowiec odpadowy, zawierający w swoim składzie szereg związków bioaktywnych o wysokim potencjale prozdrowotnym. Pomimo różnorodności odmianowej, może stanowić on cenne źródło związków polifenolowych wykorzystywanych przez przemysł farmaceutyczny do produkcji suplementów diety wspomagających profilaktykę i leczenie przewlekłych chorób niezakaźnych. Jednak ze względu na liczne kontrowersje związane z toksycznością amigdaliny i prunazyny, należy prowadzić dalsze badania naukowe, które potwierdzą lub wykluczą ich właściwości prozdrowotne, a tym samym możliwość wykorzystania pestek wiśni jako źródła związków bioaktywnych.

dr inż. Paulina Nowicka - Stypendysta korzystający ze wsparcia finansowego Fundacji na rzecz Nauki Polskiej (FNP)

Literatura

1. Bak I., Lekli I., Juhász B., Varga E., Varga B., Gesztelyi R., Szendrei L., Tósaki A. (2010). Isolation and analysis of bioactive constituents of sour cherry (*Prunus cerasus*) seed kernel: an emerging functional food. *Journal of Medicinal Food*: 13 (4), 905-910.
2. Benzie I.F.F., Strain J. (1996). The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a Measure of "Antioxidant Power": The FRAP Assay. *Analytical Biochemistry*: 239, 70-76.
3. Bolarinwa I.F., Orfila C., Morgan M.R.A. (2014). Amygdalin content of seeds kernels and food products commercially-available in the UK. *Food Chemistry*: 152, 133-193.
4. Chaouali N., Gana I., Dorra A., Khelifi F., Nouioui A., Masri W., Belwaer I., Ghorbel H., Hedhili A. (2013). Potential toxic levels of cyanide in almonds (*Prunus amygdalus*), apricot kernels (*Prunus armeniaca*) and almond syrup. *ISRN Toxicology*: 2013, 1-6.
5. Chen Y., Ma J., Wang F., Hu J., Cui A., Wei C., Yang Q., Li F. (2013). Amygdalin induces apoptosis in human cervical cancer cell line HeLa cells. *Immunopharmacology and Immunotoxicology*: 35(1), 43-51.
6. Cieślak E., Gręda A., Adamus W. (2006). Contents of polyphenols in fruit and vegetables. *Food Chemistry*: 94, 135-142.
7. Czompa A., Gyongyosi A., Czeglédi A., Csepanyi E., Bak I., Haines D.D., Tosaki A., Lekli I. (2014). Cardioprotection afforded by sour cherry seed kernel: the role of heme oxygenase-1. *Journal of Cardiovascular Pharmacology*: 64, 412-419.
8. Haminiuk C.W.I., Maciel G.M., Plata-Oviedo M.S., Rosane M., Peralta R.M. (2012). Phenolic compounds in fruits – an overview. *International Journal of Food Science and Technology*: 47, 2023-2044.
9. Kamel B.S., Kakuda Y. (1992). Characterization of the seed oil and meal from apricot, cherry, nectarine, peach and plum. *Journal of the American Oil Chemist's Society*: 69(5), 492-494.
10. Kaynak B., Topal H., Atımtay A.T. (2005). Peach and apricot stone combustion in a bubbling fluidized bed. *Fuel Processing Technology*: 86(11), 1175-1193.
11. Khoo G.M., Clausen M.R., Pedersen B.H., Larsen E. (2011). Bioactivity and total phenolic content of 34 sour cherry cultivars. *Journal of Food Composition and Analysis*: 24, 772-776.
12. Kowalczyk R., Piwnicki Ł. (2007). Pestki owoców jako cenny surowiec wtórny przemysłu spożywczego. *Postępy Techniki Przetwórstwa Spożywczego*: 17/31(2), 62-66.
13. Li Y., Li Q., Liu R., Xiang-Qian S. (2015). Chinese medicine amygdalin and β -glucosidase combined with antibody enzymatic prodrug system as a feasible antitumor therapy. *Chinese Journal of Integrative Medicine*: 21, 1-4.
14. Makarević J., Rutz J., Juengel E., Kaulfuss S., Reiter M., Tsaour I., Bartsch G., Haferkamp A., Blaheta R.A. (2014). Amigdalinal blocks bladder cancer cell growth *in vitro* by diminishing cyclin A and cdk2. *PLoS One*: 9(8), e105590.
15. Nour A., Basel A., Rabata A., Manadili A. (2016). The effect of amygdalin in the treatment of squamous cell carcinoma induced in the Buccal Pouch of Golden Syrian hamster. *Journal of Dental and Medical Sciences*: 15, 75-79.
16. Nowicka P., Wojdyło A., Oszmiański J. (2013). Jakość produktów wiśniowych dostępnych w handlu. *Przemysł Fermentacyjny i Owocowo-Warzywny*: 7-8, 40-45.
17. Olivares-Marín M., Del Prete V., Garcia-Moruno E., Fernández-González C., Macías-García A., Gómez-Serrano V. (2009). The development of an activated carbon from cherry stones and its use in the removal of ochratoxin A from red wine. *Food Control*: 20, 298-303.
18. Ou B., Huang D., Hampsch-Woodill M., Flanagan J.A., Deemer E.K. (2002). Analysis of antioxidant activities of common vegetables employing oxygen radical absorbance capacity (ORAC) and ferric reducing antioxidant power (FRAP) assays: a comparative study. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 50, 3122-3128.
19. Özcan M.M., Ünver A., Arslan D. (2014). A research on evaluation of some fruit kernels and/or seeds as a raw material of vegetable oil industry. *Quality Assurance and Safety of Crops & Foods*: 7(2), 187-191.
20. Pandey K.B., Rizvi S.I. (2009). Plant polyphenols as dietary antioxidants in human health and disease. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*: 2(5), 270-278.

21. Picariello G., De Vito V., Ferranti P., Paolucci M., Volpe M.G. (2016). Species- and cultivar-dependent traits of *Prunus avium* and *Prunus cerasus* polyphenols. *Journal of Food Composition and Analysis*: 45, 50-57.
22. Re R., Pellegrini N., Proteggente A., Pannala A., Yang M., Rice-Evans C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*: 26, 1231-1237.
23. Rodriguez R., Jimenez A., Fernandez-Bolanos J., Guillen R., Heredia A. (2006). Dietary fibre from vegetable products as source of functional ingredients. *Trends in Food Science and Technology*: 17, 912-916.
24. Tószaki A., Vecsernyés M., Fésüs L., Bak I., Juhász B., Papp L., Toth S. (2008). The application of the oil fraction obtained from sour cherry (*Prunus cerasus*) seed kernel. *Debreceni Egyetem. Opis patentowy*: WO2008035129 A2. Opubl. 27.03.2008.
25. Usenik V., Fabčić J., Stampar F. (2008). Sugars, organic acids, phenolic composition and antioxidant activity of sweet cherry (*Prunus avium* L.). *Food Chemistry*: 107, 185-192.
26. Vetter J. (2000). Plant cyanogenic glycosides. *Toxicon*: 38, 11-36.
27. Wojdyło A., Nowicka P., Laskowski P., Oszmiański J. (2014). Evaluation of sour cherry (*Prunus cerasus* L.) fruits for their polyphenol content, antioxidant properties, and nutritional components. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*: 62(51), 12332-12345.
28. Yilmaz C., Gökmen V. (2013). Compositional characteristics of sour cherry kernel and its oil as influenced by different extraction and roasting conditions. *Industrial Crops and Products*: 49, 130-135.

OZNACZANIE ZAWARTOŚCI KOFEINY W NAPARACH Z HERBAT PRZY WYKORZYSTANIU SPEKTROSKOPII UV ORAZ NIR

Herbata jest to wiecznie zielony krzew herbaciany z rodzaju *Camellia sinensis* a napar z liści tego krzewu jest drugim po wodzie najczęściej konsumowanym napojem. Skład chemiczny herbaty jest złożony, zawiera ona między innymi polifenole, alkaloidy (m.in. kofeina i teobromina), aminokwasy, węglowodany, chlorofil oraz związki lotne. Wiele z tych związków, takich jak kofeina, wykazuje aktywność biologiczną i właściwości prozdrowotne. Do oznaczania zawartości kofeiny najczęściej używa się wysokosprawnej chromatografii cieczowej (HPLC), chromatografii gazowej (GC) oraz spektroskopii UV. Metody chromatograficzne są czasochłonne i wymagają użycia drogiego sprzętu, natomiast zastosowanie spektroskopii UV do oznaczania kofeiny wymaga żmudnej i czasochłonnej ekstrakcji chloroformem. Dlatego poszukuje się innych szybszych i tańszych metod takich jak spektroskopia w bliskiej podczerwieni (NIR).

Celem niniejszej pracy było oznaczenie zawartości kofeiny przy wykorzystaniu spektroskopii UV w naparach sporządzonych z badanych 30 próbek herbat oraz sprawdzenie przydatności do tego celu pomiarów widm NIR. O przydatności pomiarów widm uzyskanych w bliskiej podczerwieni wnioskowano na podstawie współczynników korelacji uzyskanych między oznaczonymi zawartościami kofeiny na podstawie pomiarów UV, a parametrami charakteryzującymi widma lub fragmenty widm NIR.

Na podstawie przeprowadzonych badań ustalono, iż zawartość kofeiny w poszczególnych herbatach była zróżnicowana i mieściła się w przedziale od 2,28 do 19,53 mg/g liści. W wyniku przeprowadzonego testu Tukey'a stwierdzono, że tylko średnia zawartość kofeiny w herbatach oolong statystycznie istotnie różniła się od pozostałych i była zdecydowanie niższa. W przypadku herbaty oolong średnia zawartość kofeiny ukształtowała się na poziomie 3,46 mg/g liści, natomiast w przypadku pozostałych herbat typów herbat mieściła się w przedziale od 10,33 w herbacie białej do 12,86 mg/g liści w herbacie czerwonej. Ponadto uzyskano wysokie współczynniki korelacji równe 0,87 oraz 0,96 między składowymi głównymi (PCA) obliczonymi odpowiednio dla całych widm NIR (12500-4000 cm^{-1}) lub dla wybranych zakresów (6900-6000 cm^{-1} i 5000-4000 cm^{-1}) a oznaczonymi na podstawie spektroskopii UV zawartościami kofeiny w poszczególnych próbkach herbat. Na podstawie przeprowadzonych badań można stwierdzić, że pomiar widm w bliskiej podczerwieni jest dobrą metodą szacowania zawartości kofeiny w herbatach.

Słowa kluczowe: herbata, kofeina, spektroskopia UV, spektroskopia NIR

Wstęp

Herbata jest to wiecznie zielony krzew herbaciany z rodzaju *Camellia sinensis* (L.) Kuntze (*Theaceae*) a napar z liści tego krzewu jest drugim po wodzie najczęściej konsumowanym napojem na świecie [Duffy i in., 2001]. Jedną ze stosowanych klasyfikacji herbat jest ich podział ze względu na stopień obróbki liści i metody przetwarzania. Wyróżnia się sześć typów herbaty – biała, zielona, oolong, żółta, czarna oraz czerwona – pu-erh. Herbaty te różnią się zasadniczo pod względem zakresu fermentacji: zielona herbata (niefermentowana), żółta i biała herbata (lekko fermentowana, 10-20%), herbata oolong (półsfermentowana, 30-60%), czarna herbata (w pełni sfermentowana, 80-100%) i ciemna (czerwona) herbata (postfermentowane, ≤100%) [Zheng i in., 2015].

Skład chemiczny herbaty jest złożony, zawiera ona między innymi polifenole, alkaloidy (kofeina, teofilina i teobromina), aminokwasy, węglowodany, białka, chlorofil oraz lotne związki [Cabrera i in., 2003]. Wiele z tych związków, takich jak kofeina, wykazuje aktywność biologiczną i właściwości prozdrowotne [Horzic i in., 2009]. Niewielkie dawki do 250 mg/dzień kofeiny mogą wpływać na poprawę nastroju, pewności siebie, koncentracji, szybkości reakcji, jak również wzrost czujności, zmniejszenie senności i zmęczenia. Wysokie dawki (od 300 do 600 mg/dzień) mogą skutkować wzrostem napięcia, nadmiernym pobudzeniem, odczuwaniem niepokoju, pojawieniem się przyspieszonego oddechu, spadkiem wydajności, a nawet bezsennością [Bojarowicz i Przygoda, 2012].

Do oznaczania zawartości kofeiny najczęściej używa się wysokosprawnej chromatografii cieczowej (HPLC), chromatografii gazowej (GC) oraz spektroskopii UV [Blauch i Tarka, 1983; Sinija i Mishra, 2009; Edwards i in., 2015]. Metody chromatograficzne są czasochłonne i wymagają użycia drogiego sprzętu natomiast zastosowane spektroskopii UV do oznaczania kofeiny wymaga żmudnej i czasochłonnej ekstrakcji chloroformem. Dlatego poszukuje się innych szybszych i tańszych metod takich jak spektroskopia NIR [Belay i in., 2008; Zhang i in., 2013].

Spektroskopia NIR znajduje w ostatnich latach szerokie zastosowanie w badaniach żywności. Zastosowano ją m.in do sprawdzania dojrzałości awokado [Blakey, 2016], wykrywania zafałszowania mleka melamina [Chen i in., 2017], badania świeżości tuńczyka (procesu zamrażania i rozmrażania) [Reis i in., 2017], oznaczania zawartości alkoholu i kwasowości w winie jabłkowym [Peng i in., 2016], oszacowania zawartości etanolu i tokoferoli w oliwie z oliwek [Cayuela i García, 2017] do przewidywania zawartości sodu (Na) w komercyjnych przetworzonych produktach mięsnych [De Marchi i in., 2017] oraz określenia zawartości kofeiny w liściach herbaty [Min-Seuk i in., 2014]. Zaletą tej metody jest łatwość przygotowania próbek do badań oraz szybkość wykonania pomiarów.

Celem niniejszej pracy było oznaczenie zawartości kofeiny przy wykorzystaniu spektroskopii UV w naparach sporządzonych z badanych herbat oraz sprawdzenie przydatności do tego celu pomiarów widm w bliskiej podczerwieni (NIR). O przydatności pomiarów widm NIR wnioskowano na podstawie współczynników korelacji uzyskanych między oznaczonymi zawartościami kofeiny na podstawie pomiarów UV a parametrami charakteryzującymi widma lub fragmenty widm NIR.

Przedmiot badań i metodyka

Przedmiot badań

Przedmiotem badań było 30 herbat liściastych różnego typu: czarne (B), czerwone (D), białe (W), zielone (G), oolong (O) oraz żółte (Y) zakupione w dwóch sklepach internetowych. Herbaty te pochodziły od różnych producentów z różnych krajów: Chin, Japonii, Tajwanu, Indii oraz Kenii.

Metodyka oznaczania zawartości kofeiny

Oznaczenie zawartości kofeiny przy zastosowaniu spektroskopii UV

Do oznaczenia zawartości kofeiny w herbatach zastosowano metodę PN-IS0 4052:1998 zmodyfikowaną według Dankowskiej i Kowalskiego [Dankowska i Kowalski 2018].

- Przygotowanie próbek do wyznaczania krzywej kalibracyjnej

W celu sporządzenia krzywej wzorcowej przygotowano roztwór podstawowy kofeiny rozpuszczając 0,25 g czystej kofeiny w 100 cm³ wody destylowanej. Wodę uprzednio podgrzano do temperatury 95°C aby zapewnić lepszą rozpuszczalność kofeiny. Następnie z roztworu podstawowego sporządzono serię roztworów wzorcowych o stężeniach 0,2; 0,5; 0,8; 1,0; 1,5; 2,0; 2,5 mg/cm³, przenosząc odpowiednią ilość roztworu wzorcowego do kolb miarowych o pojemności 10 cm³ i dopełniając je do kreski wodą destylowaną. Pobrano 1 cm³ tak przygotowanych roztworów wzorcowych i przeniesiono do kolb miarowych o pojemności 50 cm³, które dopełniono wodą destylowaną do kreski. 10 cm³ zalkalizowano 0,1 M NaOH i umieszczono w rozdzielaczu. Ekstrahowano trzykrotnie chloroformem (użyto odpowiednio 10, 5 i 5 cm³ chloroformu) wytrząsając przez minutę po czym pozostawiano je do rozwarstwienia przez 5 minut. Zebrano warstwę zawierającą wyekstrahowaną kofeinę i umieszczono w kolbach miarowych o pojemności 25 cm³, dopełniając je do kreski chloroformem.

- *Przygotowanie próbek do badań*

Do oznaczeń za pomocą UV-Vis napary herbaciane przygotowano przez odważenie 1 g liści poszczególnych herbat, które zalano 25 cm³ wody destylowanej o temperaturze 100°C. Następnie zaparzano próbki bez przykrycia przez 15 minut, po

czym przesączono je przez sączeł celulozowy. Pobrano 1 cm³ przesączów i przeniesiono do kolb miarowych o pojemności 50 cm³, które dopełniono wodą destylowaną do kreski. Pobrano 10 cm³ tak przygotowanych roztworów i zalkalizowano 0,1 M NaOH. Po przeniesieniu zasadowych próbek do rozdzielacza, ekstrahowano je trzykrotnie chloroformem (użyto odpowiednio 10, 5 i 5 cm³ chloroformu). Najpierw roztwory wytrząsano przez minutę po czym pozostawiono je do rozwarstwienia przez 5 minut. Zebrano warstwę zawierającą wyekstrahowaną kofeinę i umieszczono w kolbach miarowych o pojemności 25 cm³, dopełniając je do kreski chloroformem.

- *Pomiar absorbcancji UV w przygotowanych próbkach*

Oznaczenie zawartości kofeiny za pomocą spektroskopii UV obejmowało rejestrację widm przygotowanych wcześniej roztworów wzorcowych kofeiny oraz próbek herbaty w zakresie 190-320 nm, w obecności chloroformu jako odnośnika. Odczytano wartości maksimum absorbcancji kofeiny przy długości fali 277 nm oraz tła przy długości fali 310 nm. Z różnicy tych dwóch wartości obliczono właściwą absorbcancję roztworu. Na podstawie absorbcancji właściwej roztworów wzorcowych kofeiny wykreślono krzywą wzorcową kofeiny (zależność absorbcancji od stężenia kofeiny), na której podstawie obliczono zawartości kofeiny w badanych próbkach herbaty.

Oznaczenie zawartości kofeiny przy zastosowaniu spektroskopii NIR

- *Przygotowanie próbek do badań NIR*

Napary herbaciane do oznaczeń za pomocą spektroskopii NIR przygotowano odważając 1 g liści, zalewając je 25 cm³ wody destylowanej o temp. 100°C i po 15 minutach przesączając pod szkiełkiem zegarkowym.

- *Pomiar widm NIR*

Oznaczenie zawartości kofeiny za pomocą spektroskopii NIR obejmowało rejestrację widm wcześniej przygotowanych próbek herbaty w świetle przechodzącym w zakresie 12500 – 4000 cm⁻¹. Każde widmo stanowiło średnią 16 interferogramów, przy rozdzielczości wynoszącej 4 cm⁻¹. Widma przedstawione zostały jako zależność absorbcancji (A) od liczby falowej [cm⁻¹]. Pomiar przeprowadzono w temperaturze 28°C, przy pomocy spektrofotometru MPA/FT-NIR, firmy Brüker i powtarzano czterokrotnie.

Analiza statystyczna

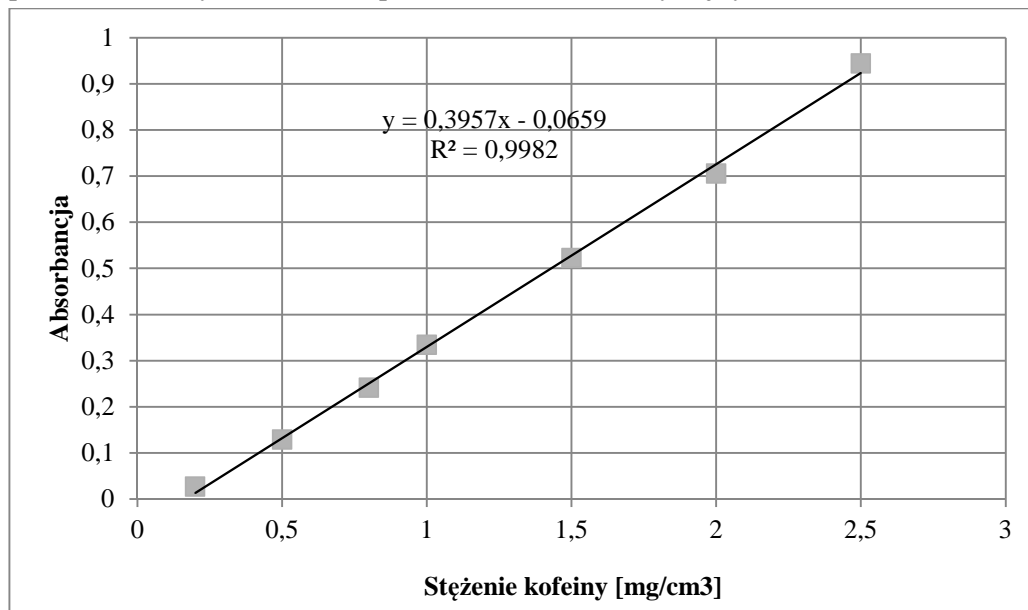
Analizę statystyczną przeprowadzono przy użyciu programu Statistica 13.1 w celu zweryfikowania istotności różnic pomiędzy zawartościami kofeiny w różnych rodzajach herbat wykonano analizę ANOVA z testem post-hoc Tukey'a przy poziomie

istotności $\alpha = 0,05$. Poza tym wykonano analizę głównych składowych (PCA), aby zredukować liczbę zmiennych oraz zastosowano wielokrotną regresję liniową (MLR) w celu zbudowania modelu umożliwiającego szacowanie zawartości kofeiny w próbkach herbat oraz ich naparach na podstawie zmierzonych widm NIR.

Wyniki i dyskusja

Krzywa wzorcowa

Na wykresie 1 przedstawiono zależność absorbancji od stężenia kofeiny w mg/cm^3 naparu. Absorbancja właściwa jest to absorbancja przy długości fali 277 nm, pomniejszona o absorbancję tła przy długości 310 nm. Zawartość kofeiny w badanych próbkach herbaty obliczono na podstawie równania krzywej: $y = 0,395x - 0,065$.

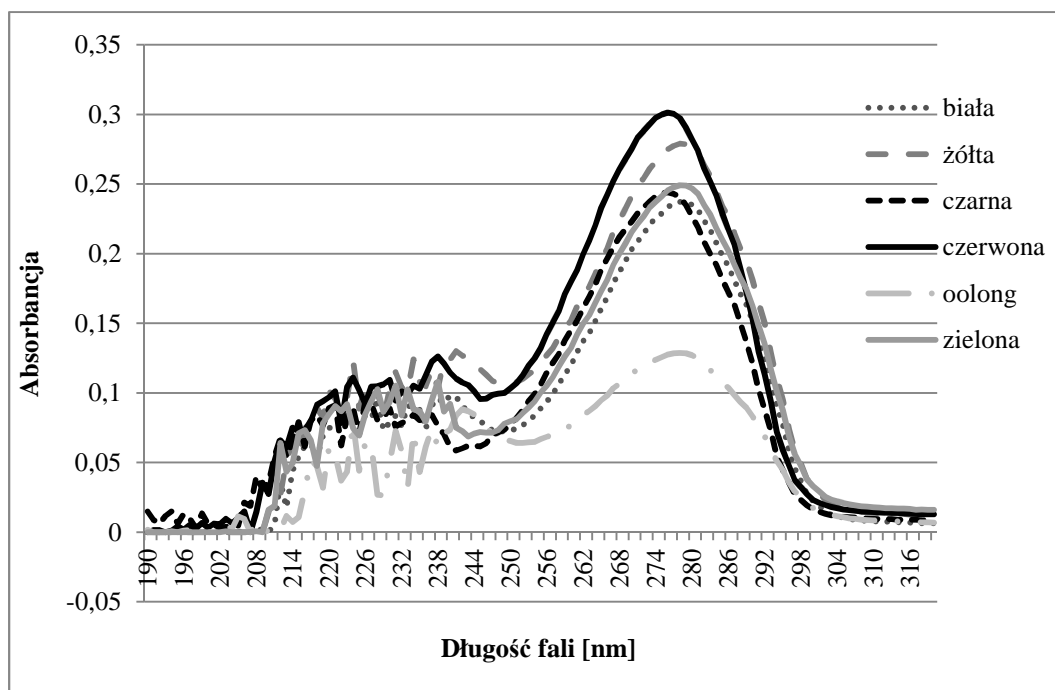


Wykres 1. Krzywa wzorcowa kofeiny

Oznaczenie zawartości kofeiny w naparach herbacianych

Oznaczenie przy wykorzystaniu spektrofotometrii UV

Pomiaru absorbancji przygotowanych próbek dokonano dwukrotnie dla ekstraktów chloroformowych otrzymanych da każdej herbaty. Na wykresie 2 przedstawiono uśrednione widmo z wszystkich próbek danego typu herbaty jako zależność absorbancji od długości fal w zakresie 190 - 320 nm.



Wykres 2. Usrednione widma absorpcji promieniowania UV dla różnych rodzajów herbat

W tabeli 1. zamieszczono oznaczone zawartości kofeiny w badanych próbkach herbat w mg/cm^3 oraz w mg/g liści herbat. Zawartość kofeiny w 1 g liści białej herbaty kształtowała się na poziomie od 5,09 do 16,62 mg, a średnia zawartość kofeiny we wszystkich próbkach tego rodzaju herbaty to 10,33 mg/g liści. W przypadku herbaty czarnej zawartość kofeiny wahała się między 7,24 a 12,26 mg/g liści, natomiast średnia zawartość wyniosła 10,58 mg/g liści. 1 g liści czerwonej herbaty zawierał od 6,64 do 19,53 mg kofeiny, a średnia jej zawartość w tego rodzaju herbatach to 12,86 mg/g liści. Zawartość kofeiny w herbatach oolong to średnio 3,45 mg/g liści, natomiast jej zawartość w poszczególnych próbkach kształtowała się na poziomie od 2,28 do 25 mg/g liści. Dla herbaty zielonej wartości te były na poziomie odpowiednio od 5,31 do 14,85 mg/g liści i 10,87 mg/g liści, a dla herbaty żółtej od 9,01 do 15,74 mg/g liści oraz 12,48 mg/g liści. Nie można jednoznacznie wywnioskować, że herbaty białe czy zielone zawierają mniej kofeiny niż np. herbaty czarne. Spowodowane jest to tym, że obróbka liści, która jest głównym wyznacznikiem rodzaju herbaty ma niewielki wpływ na zawartość kofeiny w naparach [Hicks i in., 1996; Melican, 2008].

Tabela 1. Oznaczona zawartość kofeiny w herbatach

Herbata	Numer próbki	Kofeina mg/cm ³ naparu ±σ	Kofeina mg/g liści herbaty ±σ	Herbata	Numer próbki	Kofeina mg/cm ³ naparu ±σ	Kofeina mg/g liści herbaty ±σ
W	1	0,66±0,00	16,62±0,09	O	1	0,09±0,01	2,31±0,13
	2	0,43±0,03	10,72±0,76		2	0,10±0,01	2,57±0,13
	3	0,20±0,01	5,09±0,31		3	0,21±0,01	5,25±0,36
	4	0,25±0,01	6,23±0,22		4	0,20±0,00	4,90±0,04
	5	0,52±0,01	12,99±0,31		5	0,09±0,00	2,28±0,00
	Śr.	0,41±0,01	10,33 ^A ±4,77		Śr.	0,14 ±0,01	3,46 ^B ±1,48
B	1	0,29±0,01	7,24±0,31	G	1	0,59±0,02	14,85±0,54
	2	0,42±0,01	10,59±0,13		2	0,21±0,01	5,31±0,36
	3	0,45±0,01	11,13±0,36		3	0,58±0,03	14,47±0,63
	4	0,47±0,02	11,66±0,58		4	0,28±0,02	7,02±0,45
	5	0,49±0,01	12,26±0,36		5	0,51±0,02	12,67±0,58
	Śr.	0,42 ±0,01	10,58 ^A ±1,97		Śr.	0,43 ±0,00	10,86 ^A ±4,41
D	1	0,56±0,01	13,91±0,36	Y	1	0,36±0,00	9,01±0,04
	2	0,78±0,05	19,53±1,34		2	0,47±0,01	11,85±0,13
	3	0,44±0,01	11,09±0,13		3	0,63±0,02	15,74±0,45
	4	0,27±0,01	6,64±0,36		4	0,60±0,03	14,95±0,67
	5	0,53±0,04	13,15±0,89		5	0,43±0,01	10,84±0,31
	Śr.	0,51 ±0,02	12,86 ^A ±4,68		Śr.	0,50 ±0,01	12,48 ^A ±2,82

Objaśnienia: Wartości średnie oznaczone tą samą literą nie różnią się statystycznie istotnie na podstawie testu Tuckey'a przy poziomie istotności $\alpha = 0,05$.

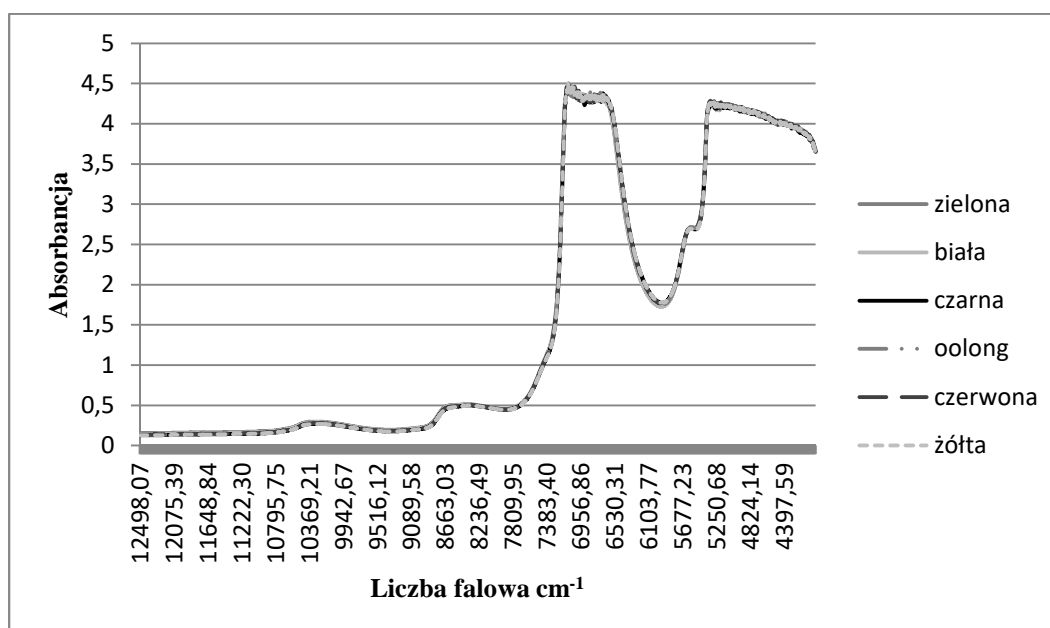
Zawartość kofeiny w herbacie jest zależna od sposobu jej zaparzania. Wyższa temperatura wody powoduje szybszą ekstrakcję tego alkaloidu. Nie jest to jednak istotne, ponieważ w wodzie o temperaturze pokojowej również możemy uzyskać pełną ekstrakcję kofeiny z liści. Znaczenie ma natomiast czas parzenia. Jak podaje Hicks i in. [1996] pełna ekstrakcja kofeiny z liści herbaty w wodzie o temperaturze 100 °C zachodzi dopiero po 15 minutach [Melican, 2008]. Susze herbaciane bardziej rozdrobnione przekazują kofeinę do napoju szybciej niż całe liście. Wpływa na to powierzchnia kontaktu z wodą. Istotnie niższa zawartość kofeiny w herbatach oolong może wynikać z faktu, że liście herbaty oolong nie są łamane, stąd też mniejsza powierzchnia ekstrakcji, jako że stopień rozdrobnienia liści jest, według źródeł literaturowych, czynnikiem wpływającym na zawartość kofeiny w naparze. Zawartość kofeiny zmniejsza się wraz z wiekiem liścia.

Najbogatsze w kofeinę są pączki liściowe a w kolejnych liściach na gałązce zawartość kofeiny spada [Hicks i in., 1996; Melican, 2008].

W wyniku przeprowadzonego testu Tukey'a próbki herbaty zostały podzielone na dwie grupy, A i B. Do grupy A przyporządkowane zostały herbaty czerwona, czarna, zielona, żółta i biała, natomiast do grupy B herbata oolong. Na podstawie tego przyporządkowania można stwierdzić, że jedynie zawartość kofeiny w herbacie oolong statystycznie istotnie różniła się od zawartości kofeiny w pozostałych herbatach, była od nich zdecydowanie niższa. Wartości oznaczone tą samą literą nie różnią się statystycznie istotnie na podstawie testu Tuckey'a przy poziomie istotności $\alpha = 0,05$.

Oznaczenie zawartości kofeiny na podstawie spektroskopii NIR

Na wykresie 3. przedstawiono uśrednione widma z wszystkich próbek danego rodzaju herbaty w zakresie liczb falowych 12500 – 4000 cm^{-1} .



Wykres 3. Średnie widma absorbancji NIR zmierzone dla naparów herbat białych, zielonych, żółtych, oolong, czerwonych i czarnych

Następnie skorelowano uzyskane widma NIR z oznaczonymi zawartościami kofeiny przy wykorzystaniu metody UV. W tym celu uzyskane wyniki pomiarów widm absorbancji naparów herbat poddano analizie głównych składowych (PCA). Wielokrotną regresję liniową zastosowano w celu zbudowania modeli umożliwiających oznaczenie zawartości kofeiny w herbacie na podstawie widma absorbancji NIR.

Tabela 2. Parametry statystyczne opisujące dopasowanie modeli wielokrotnej regresji liniowej uzyskanych na podstawie widm absorbancji NIR

Zakres liczb falowych	Współczynnik korelacji R	Współczynnik determinacji R ²	Błąd standardowy estymacji RMSE [mg/g herbaty]
12500-4000 cm ⁻¹	0,87	0,75	1,43
6900-6000 cm ⁻¹ i 5000-4000 cm ⁻¹	0,96	0,92	1,26

Analizę przeprowadzono na danych uzyskanych w wyniku przeprowadzenia analizy głównych składowych (PCA). W tabeli 2 przedstawiono parametry statystyczne opisujące dopasowanie wielokrotnej regresji liniowej w celu prognozowania zawartości kofeiny.

Współczynnik korelacji między zawartością kofeiny a poziomem absorbancji dla całego zakresu liczb falowych (12500-4000 cm⁻¹) wynoszący 0,87 świadczy o istotnej korelacji zawartości kofeiny i poziomu absorbancji, natomiast współczynnik determinacji mówi o tym, że w 75% zawartość kofeiny w herbacie jest wytłumaczona przez poziom absorbancji widm NIR w analizowanym zakresie. Dla połączonego zakresu liczb falowych 6900-6000 cm⁻¹ i 5000-4000 cm⁻¹ uzyskano wyższy współczynnik korelacji między zawartością kofeiny a poziomem absorbancji wynoszący 0,96. Świadczy on o bardzo istotnej korelacji zawartości kofeiny i poziomu absorbancji, natomiast współczynnik determinacji mówi o tym, że w 92% zawartość kofeiny w herbacie jest wytłumaczona przez poziom absorbancji widm NIR w wyżej wymienionych połączonych zakresach. Nieco niższy współczynnik determinacji pomiędzy zawartością kofeiny a poziomem absorbancji w podczerwieni, wynoszący 0,86, uzyskali Huck i in. (2005) analizując wodne napary kaw. Z kolei wyższy współczynniki dereminacji między zawartością kofeiny a poziomem absorbancji promieniowania NIR (0,98) uzyskali Sinija i Mishra (2009) analizując sproszkowaną oraz granulowaną zieloną herbatę (instant), co może sugerować, iż zudowanie osobnych modeli statystycznych dla różnych typów herbat mogłoby poprawić ich zdolności prognostyczne.

Wnioski

Na podstawie przeprowadzonych badań stwierdzono, że zawartość kofeiny w obrębie poszczególnych typów herbat była zróżnicowana i wbrew powszechnej opinii nie można stwierdzić, że herbaty białe czy zielone charakteryzują się mniejszą jej zawartością niż herbaty czarne czy czerwone. W wyniku przeprowadzonego testu Tukey'a można stwierdzić, że jedynie zawartość kofeiny w herbatach oolong statystycznie istotnie różniła się od pozostałych, była zdecydowanie niższa. W przypadku herbaty oolong średnia zawartość kofeiny ukształtowała się na poziomie 3,46 mg/g liści,

natomiast w przypadku pozostałych herbat mieściła się w przedziale średnio od 10,35 do 12,86 mg/g liści.

Dokonano pomiaru absorbancji NIR próbek naparów herbacianych. Na podstawie uzyskanych widm przeprowadzono analizę głównych składowych (PCA), aby zredukować liczbę zmiennych oraz zastosowano wielokrotną regresję liniową (MLR) w celu zbudowania modelu umożliwiającego szacowanie zawartości kofeiny w próbkach herbat oraz ich naparach na podstawie zmierzonych widm NIR. Uzyskano bardzo wysokie współczynniki korelacji równe odpowiednio 0,87 oraz 0,96 między składowymi głównymi (PCA) uzyskanymi odpowiednio dla całych widm NIR (12500-4000 cm^{-1}) lub dla wybranych zakresów liczb falowych (6900-6000 cm^{-1} i 5000 – 4000 cm^{-1}) a oznaczonymi na podstawie spektroskopii UV zawartościami kofeiny w poszczególnych próbkach herbat.

Na podstawie przeprowadzonych badań można stwierdzić, że pomiar widm NIR jest dobrą metodą szacowania zawartości kofeiny w herbatach. Oznaczanie kofeiny przy wykorzystaniu metody UV jest stosunkowo czasochłonne gdyż niezbędny jest etap kilkukrotnej ekstrakcji przy użyciu np. chloroformu. Przewagą pomiarów w podczerwieni jest to, iż widma te można zmierzyć bezpośrednio dla naparów herbat z pominięciem etapu ekstrakcji uzyskując wysoką korelację z wartościami uzyskanymi na podstawie pomiarów UV. Jest to metoda bardzo szybka, ponieważ nie wymaga ekstrakcji próbek herbat chloroformem, sam pomiar widm uzyskany dla wodnych naparów daje zadowalające wyniki.

Źródło finansowania Badania statutowe Wydział Towaroznawstwa Uniwersytetu Ekonomicznego w Poznaniu nr 51102-3-162

Literatura

1. Belay A., Ture K., Redi M., Asfaw A. (2008). Measurement of caffeine in coffee beans with UV/vis spectrometer. *Food Chemistry*, 108, 310-315.
2. Blakey R.J. (2016). Evaluation of avocado fruit maturity with a portable near-infrared spectrometer. *Postharvest Biology and Technology*, 121, 101-105.
3. Blauch J.L., Tarka S.M. (1983). HPLC Determination of Caffeine and Theobromine in Coffee, Tea, and Instant Hot Cocoa Mixes, 48, 3, 745-747
4. Bojarowicz H., Przygoda M. (2012). Kofeina. Cz. I. Powszechność stosowania kofeiny oraz jej działanie na organizm. *Problemy Higieny i Epidemiologii*, 93, 1, 8-13.
5. Cabrera C., Gimenez R., Lopez C. (2003). Determination of tea components with antioxidant activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51, 4427-4435.
6. Cayuela J.A., García J.F. (2017). Sorting olive oil based on alpha-tocopherol and total tocopherol content using near-infrared spectroscopy (NIRS) analysis. *Journal of Food Engineering*, 202, 79-88.
7. Chen H., Tana C., Lin Z., Wu T. (2017). Detection of melamine adulteration in milk by near-infrared spectroscopy and one-class partial least squares. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 173, 832-836.
8. Dankowska A., Kowalski D. (2018). Impact of selected brewing methods on caffeine content in coffee infusions, *TPJ*, 54(1), 58-65

9. De Marchi M., Manueliana C.L., Tona S., Manfrin D., Meneghesso M., Cassandro M., Penasa M. (2017). Prediction of sodium content in commercial processed meat products using near infrared spectroscopy. *Meat Science*, 125, 61-65.
10. Duffy S.J., Keaney Jr., J.F., Holbrook M., Gokce N., Swerdloff P.L., Frei B., Vita J.A. (2001). Short- and Long-Term Black Tea Consumption Reverses Endothelial Dysfunction in Patients With Coronary Artery Disease, *Circulation*, 104, 151-156.
11. Edwards Q.A., Hinkson S.-A.A., Garner-O'Neale L.D., Kulikov S.M. (2015) *Int. J. Chem. Sci.: Quantification of caffeine in selected beverages via gas chromatography mass spectroscopy*. 13(1), 133-142.
12. Hicks M.B., Hsieh Y.-H.P., Bell L.N. (1996). Tea preparation and its influence on methylxanthine concentration. *Food Research International*, 29, 3-4, 325-33.
13. Horzic D., Komes D., Belščak A., Kovacevic-Ganic A., Ivekovic D., Karlovic D. (2009). The composition of polyphenols and methylxanthines in teas and herbal infusions. *Food Chemistry*, 115, 441–448.
14. Huck C.W., Guggenbichler W., Bonn G.K. (2005). Analysis of caffeine, theobromine and theophylline in coffee by near infrared spectroscopy (NIRS) compared to high-performance liquid chromatography (HPLC) coupled to mass spectrometry. *Analytica Chimica Acta*, 538, 195-203.
15. Melican N. (2008). Caffeine and tea: Myth and Reality, <http://chadao.blogspot.com/2008/02/caffeine-and-tea-myth-and-reality.html> (dostęp on-line: 19.11.2017).
16. Min-Seuk L., Young-Sun H., Jinwook L., Myoung-Gun C. (2014). The characterization of caffeine and nine individual catechins in the leaves of green tea (*Camellia sinensis* L.) by near-infrared reflectance spectroscopy. *Food Chemistry* 158, 351-357.
17. Peng B., Ge N., Cui L., Zhao, H. (2016). Monitoring of alcohol strength and titratable acidity of apple wine during fermentation using near-infrared spectroscopy. *LWT – Food Science and Technology*, 66, 86-92.
18. PN-ISO 4052:1998 Kawa - Oznaczanie zawartości kofeiny (Metoda odwoławcza)
19. Reis M.M., Martínez E., Saitua E., Rodríguez R., Perez I., Olabarrieta I. (2017). Non-invasive differentiation between fresh and frozen/thawed tuna fillets using near infrared spectroscopy (Vis-NIRS). *LWT - Food Science and Technology*, 78, 129-137.
20. Siniija V.R.H.N., Mishra, H.N. (2009). FT-NIR spectroscopy for caffeine estimation in instant green tea powder and granules *LWT - Food Science and Technology*, 42, 5, 998-1002
21. Zhang X., Li W., Yin B., Chen W., Kelly D.P., Wang X., Zheng K., Du Y. (2013). Improvement of near infrared spectroscopic (NIRS) analysis of caffeine in roasted Arabica coffee by variable selection method of stability competitive adaptive reweighted sampling (SCARS). *Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc*, 114, 350-356.
22. Zheng W.-J., Wan X.-C., Bao G.-H. (2015). Brick dark tea: A review of the manufacture, chemical constituents and bioconversion of the major chemical components during fermentation. *Phytochemistry Reviews*, 14(3), 499–523.

MAŁGORZATA DŻUGAN

Katedra Chemii i Toksykologii Żywności, Wydział Biologiczno-Rolniczy, Uniwersytet Rzeszowski

ROLA SIARKOORGANICZNYCH ZWIĄZKÓW CZOSNKU (*ALLIUM SATIVUM*) W OGRANICZANIU BIODOSTĘPNOŚCI KADMU Z DIETY

Streszczenie

Czosnek pospolity (*Allium sativum* L.) jest cenioną rośliną zielarską, wykazującą szerokie spektrum właściwości prozdrowotnych, w tym zdolność do detoksykacji metali ciężkich. Za farmakologiczne działanie czosnku odpowiadają głównie organiczne związki siarkowe, a ich zawartość zależy od odmiany i pochodzenia. W procesie liofilizacji obserwuje się istotną utratę lotnych związków siarkowych, związaną z częściową eliminacją zapachu, ale również osłabieniem działania farmakologicznego. Detoksykacyjne właściwości czosnku wobec metali ciężkich potwierdzono głównie w badaniach *in vivo* z udziałem gryzoni laboratoryjnych. W badaniach własnych wykazano możliwość zastosowania czosnku jako środka detoksykującego kadm z wykorzystaniem modelu *in ovo*. Wprowadzenie kadmu w ekstrakcie świeżego czosnku do jaj wylęgowych podczas inkubacji ograniczało negatywne skutki wywoływane przez kadm, analogicznie jak podczas stosowania uznanych substancji protektorowych tj. zredukowany glutation i N-acetylocysteina. Potwierdzono, że mechanizm działania detoksykacyjnego czosnku obejmuje kowalencyjne wiązanie metali przez grupy sulfhydryłowe związków siarkoorganicznych.

Słowa kluczowe: kadm, czosnek, związki siarkoorganiczne, działanie antyoksydacyjne

Wprowadzenie

Kadm (Cd) to metal ciężki, nie wykazujący żadnego działania fizjologicznego, który stanowi powszechne zanieczyszczenie środowiskowe, pochodzące ze źródeł przemysłowych i rolniczych. Ze względu na rosnące zastosowanie przemysłowe, m.in. w produkcji baterii kadmowo-niklowych, barwników i stabilizatorów do tworzyw sztucznych, pierwiastek ten stwarza realne zagrożenie dla zdrowia ludzi i zwierząt [Czczot i Skrzycki, 2010].

Dla populacji niepalących głównym źródłem narażenia na kadm jest żywność, a dla palaczy tytoniu – kadm zawarty w dymie tytoniowym [Kaczyńska i in., 2015]. Wdychanie pyłów kadmowych lub pobieranie związków kadmu drogą pokarmową z różnych źródeł prowadzi do jego kumulacji w organizmie człowieka, ponieważ

metal ten charakteryzuje się wyjątkowo długim okresem biologicznego półtrwania (10-30 lat). Mechanizmy toksycznego działania kadmu są wielokierunkowe, a jednym z nich jest indukcja oraz nasilanie stresu oksydacyjnego, w szczególności intensyfikacja procesów peroksydacji lipidów oraz inhibicja enzymów antyoksydacyjnych [Rani i in., 2014]. Ekspozycja, także chroniczna, na związki kadmu sprzyja występowaniu nowotworów płuc, nerek, prostaty i piersi [Czeczot i Skrzycki 2010; Rani i in., 2014].

Rosnąca ekspozycja na kadm sprawia, że wciąż poszukiwane są efektywne metody detoksykacji nie powodujące skutków ubocznych. Toksyczność kadmu obecnego w diecie może być ograniczana przez zastosowanie odpowiedniej strategii żywieniowej, polegającej na wzbogaceniu diety w składniki, które wiążąc jony kadmowe zwiększają jego wydalanie z organizmu i ograniczają negatywne skutki jego działania. W ostatnich latach w licznych badaniach testowano skuteczność składników czosnku zwyczajnego (*Allium sativum* L.) jako substancji ochronnej w warunkach narażenia organizmów na kadm.

Bioaktywne związki czosnku pospolitego

Czosnek zwyczajny (pospolity) (*Allium sativum* L.) jest popularną rośliną, stosowaną w wielu częściach świata zarówno w celach kulinarnych, jak i terapeutycznych [Corzo-Martinez i in., 2007; Block, 2010]. Jest on jedną z najstarszych roślin leczniczych, a także istotnym składnikiem diety śródziemnomorskiej oraz popularną przyprawą w Azji, Afryce i Europie [Tsai i in., 2012]. Czosnek zawiera ponad 2000 aktywnych biologicznie substancji, a wśród nich specyficzne lotne, rozpuszczalne w wodzie i oleju związki siarkoorganiczne, odpowiedzialne za charakterystyczny „czosnkowy” zapach [Kwiecień, 2008]. W skład cebuli czosnku wchodzi przede wszystkim węglowodany (ok. 35%), białka (6%), śladowe ilości tłuszczu (0,5%) i wiele cennych składników mineralnych (potas, wapń, fosfor, magnez, żelazo, cynk, mangan oraz siarka) oraz witamin (C – 30 mg%, z grupy B oraz β -karoten) [Dżugan, 2013]. Czosnek zawiera również fitosterole, olejki aromatyczne, polifenole, enzymy peroksydazę) oraz kwasy organiczne [Kwiecień, 2008].

Specyficznie wysoka zawartość siarki (ok. 0,2% św. m.) jest związana z występowaniem tioaminokwasów, które pod wpływem obróbki mechanicznej i termicznej generują ponad 30 pochodnych siarkoorganicznych o zróżnicowanej bioaktywności [Kwiecień, 2008; Majewski, 2014]. Organiczne związki siarki w nienaruszonym ząbku czosnku to głównie unikalne bezzapachowe niebiałkowe aminokwasy – sulfotlenki S-alk(en)yl-L-cysteiny (w tym głównie allina – ok. 1% św. m. oraz metiina, propiina i isoallina występujące w mniejszych ilościach) oraz

dipeptydy γ -glutamyl-S-alk(en)yl-L-cysteiny (0,5-1,6% św. m.) [Kwiecień, 2008]. W wyniku uszkodzenia ząbka czosnku (żucie, miażdżenie, itp.) allina ulega enzymatycznemu przekształceniu do allicyny (tiosulfonian diallilowy) w obecności allinazy (EC 4.4.1.4). Allicyna jest niestabilnym produktem pośrednim i już w temperaturze pokojowej ulega powolnemu rozkładowi, którego produktami są disulfid diallilowy (66%), sulfid diallilowy (14%) i trisulfid diallilowy (9%), a nawet dwutlenek siarki [Lawson, 1998; Kwiecień, 2008]. Proces degradacji allicyny i pozostałych związków siarki przebiega z większą szybkością i prowadzi do powstania nowych pochodnych – winyloditiin i ajoenów. Konsekwencją złożonego mechanizmu degradacji prekursorów tioaminokwasowych, zależnego od warunków przetwarzania, jest odmienny profil związków siarkoorganicznych w produktach „czosnkowych”, dostępnych na rynku: świeże cebule zawierają głównie alliinę, olejek eteryczny – disulfid allilowy (DAS), disulfid diallilowy (DADS) i trisulfid diallilowy (DATS), podczas gdy macerat oleju – głównie winylo-1,3-ditiinę, winylo-1,2-ditiinę, E-ajoen i Z-ajoen [Kwiecień, 2008; Khar i in., 2011; Majewski, 2014]. Złożony przebieg procesu degradacji prekursorów siarkoorganicznych generuje problemy analityczne podczas jakościowego i ilościowego oznaczania związków siarkoorganicznych w czosnku. Ze względu na temperaturę analizy GC, głównymi identyfikowanymi związkami są produkty rozpadu allicyny (polisulfidki i winyloditiiny), podczas gdy za pomocą HPLC – w większym stopniu alk(en)ylsulfotlenki, przy czym ze względu na niestabilność produktów degradacji oznaczenia wymagają wielu powtórzeń [Block, 2010].

Wpływ odmiany i pochodzenia na skład chemiczny czosnku

Czosnek pospolicie uprawiany w różnych regionach geograficznych charakteryzuje się zróżnicowanym składem chemicznym, głównie pod względem zawartości składników biologicznie czynnych, co skutkuje odmiennymi właściwościami prozdrowotnymi [Gorinstein i in., 2005; Majewski, 2014; Ciuba i in., 2016]. Wpływ odmiany, pochodzenia, warunków klimatycznych, a także różnic w procedurach analitycznych sprawia, że wyniki badań są trudne do porównania. W badaniach własnych [Dżugan, 2013] wykazano istotnie wyższą całkowitą zawartość siarki (i innych składników mineralnych) w ozimej odmianie czosnku (Harnaś) w porównaniu do jarej (Jarus), odpowiednio 0,21 i 0,14%. Wyniki te znajdują potwierdzenie w badaniach innych autorów [Beato i in., 2011; Ciuba i in., 2016].

W ostatnich latach wiele kontrowersji dotyczy jakości czosnku importowanego z Chin, który pojawił się na rynku w konkurencyjnej cenie do produktu krajowego. W powszechnej opinii jest on uważany za mniej zdrowy, ale nie znajduje to potwierdzenia w dostępnych wynikach badań. Zaletą chińskiego czosnku jest dłuższy

okres przechowywania, będący wynikiem powolnego kiełkowania. Podejrzewa się więc, że produkt jest utrwalony chemicznie lub radiacyjnie, co może być związane z obniżeniem jakości (degradacja białek i witamin, powstanie wolnych rodników). Przeprowadzone badania porównawcze polskiego i chińskiego czosnku poddanego napromieniowaniu dawką 150 KGy, nie dostarczyły dowodu na powtórne utrwalenie czosnku chińskiego tą metodą mimo, że do oceny skutków napromieniowania zastosowano bardzo czułą metodę fotochemiluminescencyjną wyznaczania potencjału przeciwutleniającego [Dżugan i in., 2011a]. Podobnie, wyniki analizy porównawczej polskich odmian czosnku (Jarus i Harnaś) i odmian chińskiego czosnku dostępnych w handlu (odmiana nieznana, biały i czerwony) wykazały, że zawartość polifenoli, składników mineralnych i aktywność antyoksydacyjna były wyższe w przypadku czosnku krajowego, chociaż obserwowane różnice nie były istotne ($P > 0,05$). Czosnek krajowy okazał się bardziej zanieczyszczony kadmem niż czosnek chiński. Ponadto, najwyższą zawartość związków siarkoorganicznych stwierdzono w polskim czosnku ozimym i chińskim białym. Obie odmiany wykazywały podobną aktywność antybakteryjną wobec 6 badanych szczepów bakterii [Dżugan, 2013]. Podobne wyniki uzyskała Matysiak i in. [2015], wykazując lepsze zdolności do wygaszania wolnych rodników DPPH• i ABTS•+ w przypadku wodnego ekstraktu z czosnku chińskiego, który wpływał na hamownie wzrostu drożdży *Saccharomyces cerevisiae*, podczas gdy ekstrakt z czosnku polskiego nie wykazywał takiego działania.

W procesie liofilizacji zawartość związków siarkowych drastycznie spada, przy zachowaniu pozostałych składników mineralnych [Dżugan, 2013]. W profilu związków siarkowych ekstraktu czosnku liofilizowanego, niezależnie od odmiany, obserwowano zmiany jakościowe i ilościowe. Czosnek liofilizowany wykazywał również znacznie słabsze właściwości antyoksydacyjne i działanie antybakteryjne [Dżugan, 2013]. Podobne wyniki uzyskali Gorinstein i in. [2005], którzy obserwowali niekorzystne zmiany związków bioaktywnych, białek i zawartości przeciwutleniaczy w próbkach czosnku polskiego, ukraińskiego i izraelskiego poddanych obróbce termicznej (gotowanie).

Właściwości lecznicze czosnku

Czosnek pospolity to jedna z najlepiej zbadanych roślin zielarskich. Tradycyjnie stosowany jest w leczeniu infekcji, przeziębienia, cukrzycy, chorób serca i wielu innych zaburzeń [Świdorski i in., 2007; Marciniec i Włodarczyk-Marciniec, 2008; Deresse, 2010; Kędzia, 2010; Omar i Al-Wabel, 2010]. Najważniejszym składnikiem leczniczym czosnku jest allicyna, substancja, która jest uznawana za silniejszy antybiotyk niż penicylina lub tetracyklina. Ponadto, czosnek zawiera inne składniki bioaktywne, tj. pierwiastki śladowe (Zn, Mn, Cu, Se i I), glikozydy steroidowe,

lektyny, prostaglandyny, fruktany, adenozyne, flawonoidy i fenole [Omar i Al-Wabel, 2010]. Biologiczną i farmakologiczną rolę tych składników czosnku badano przez kilka dziesięcioleci [Fenwick i Hanley, 1985; Corzo-Martinez i in., 2007; Tsai i in., 2012], wskazując trzy główne właściwości lecznicze:

- aktywność przeciwdrobnoustrojową, za którą odpowiadają związki siarkoorganiczne,
- aktywność przeciwutleniającą – synergiczne i addytywne działanie przeciwutleniaczy obecnych w czosnku tj. związki siarki, flawonoidy i niezbędne mikroelementy,
- aktywność przeciwnowotworową i antymutagenną – działanie związków zawierających siarkę (DADS, ajoen) [Tsai i in., 2012].

Należy pamiętać, że mimo tak wielu pozytywnych efektów prozdrowotnych, nadmierne spożycie czosnku może być niekorzystne dla zdrowia. Oprócz nieprzyjemnego zapachu, wyczuwalnego w oddechu i wydzielającego się z ciała, może on powodować niepożądane efekty uboczne, takie jak zaburzenia żołądkowe, reakcje alergiczne i wewnętrzne krawawienia. Efekty te są bardzo zróżnicowane osobniczo [Kwiecień, 2008].

Detoksykacyjne działanie czosnku wobec metali ciężkich

Przeprowadzone w ostatnich latach badania wykazały, że ekstrakt czosnku znacznie zmniejsza gromadzenie się metali ciężkich w różnych tkankach, co wskazuje na jego potencjalne terapeutyczne zastosowanie do detoksykacji metali ciężkich w organizmie [Massadeh i in., 2007; Sharma i in., 2010; El-Sayyad i in., 2010; Mansoub, 2011]. W oparciu o eksperymenty *in vivo* z udziałem gryzoni laboratoryjnych, w których stosowano pojedyncze, czyste chemicznie substancje (DADS, ajoen), ochronny wpływ czosnku przypisano związkom siarkoorganicznym [Lawal i Ellis, 2011; Ponnusamy i Pari, 2011]. Nie można jednak pominąć korzystnego działania dodatkowych składników czosnku, wśród nich niezbędnych metali śladowych. W oparciu o dostępne wyniki dotyczące badań antagonizmów niektórych biopierwiastków, zaleca się suplementację cynkiem i wapniem w warunkach narażenia na kadm [Culliane i in., 2009; Džugan i in., 2012].

Kadm wykazuje toksyczność wyłącznie w formie zjonizowanej, dlatego podstawowym mechanizmem detoksykacji kadmu na poziomie komórkowym jest jego unieszkodliwianie z udziałem niskocząsteczkowych przeciwutleniaczy i metalotioneiny. Wykazano, że glutation (GSH) i N-acetylocysteina (NAC, prekursor GSH), mogą ograniczać hepatotoksyczny i nefrotoksyczny efekt działania kadmu [Adamis, 2009; Wang i in., 2009]. Ochronne działanie czosnku wobec kadmu zostało dobrze udokumentowane w badaniach *in vitro* i *in vivo*, zarówno z udziałem

surowego ekstraktu czosnkowego lub przetworzonych produktów na bazie czosnku, jak też pojedynczych związków siarkoorganicznych, Mechanizm interakcji wciąż pozostaje w sferze badań. Wskazuje się na połączony efekt chelatowania metali, zmniejszenie wchłaniania w przewodzie żołądkowo-jelitowym i zwiększanie wydalania kadmu z organizmu [Boonpeng i in., 2014; Andleeb i Shaukat, 2018].

Badania ochronnego działania czosnku wobec kadmu w warunkach modelu *in ovo*

Zarodek kurzy jest dobrze znanym modelem biologicznym, stosowanym w badaniach toksykologicznych i farmaceutycznych, głównie ze względu na dostępność i niskie koszty eksperymentu [Vargas i in., 2007]. Jajo zapewnia wszystkie składniki odżywcze niezbędne dla wzrostu i rozwoju zarodka, co stwarza doskonały scenariusz do testowania wpływu czynników egzogennych wprowadzanych metodą iniekcji do jaja, znanego jako technika „*in ovo*”, z ograniczeniem uwarunkowań środowiskowych, genetycznych, wpływu diety i sezonu. Podanie ksenobiotyku do białka jaja odpowiada pobraniu toksyny drogą pokarmową (zarodek połyka białko w całości), a równocześnie można wprowadzać do jaja substancje protektorowe. Ocena wpływu czynnika toksycznego jest możliwa na różnych etapach rozwoju zarodka, z zastosowaniem równoczesnych analiz wyników lęgu i makroskopowych wad rozwojowych, jak też analiz histologicznych i molekularnych wylężonych piskląt.

Detoksykacyjne działanie czosnku wobec kadmu wykazano po raz pierwszy z wykorzystaniem modelu "*in ovo*" z zastosowaniem dawki 6 $\mu\text{g Cd}^{2+}$ /jajo wprowadzonej w 4 dniu inkubacji [Dżugan, 2013], a ostatnio dawki 1,5 $\mu\text{g Cd}^{2+}$ /jajo podanej w 7 dobie [Andleeb i Shaukat, 2018]. W obu badaniach wykazano, że równoczesna iniekcja kadmu i ekstraktu czosnku poprawia wyniki lęgu, parametry morfologiczne i biochemiczne wylężonych kurcząt. W badaniach własnych lepszą efektywność obserwowano w przypadku polskiego czosnku zimowego niż białego czosnku chińskiego [Dżugan, 2013]. Ponadto, słabsze działanie kompensacyjne obserwowano stosując ekstrakt czosnku liofilizowanego. Wykazano, że efekt ochronny czosnku był porównywalny z działaniem uznanych środków chelatujących kadm – N-acetylocysteiną i glutationem [Dżugan, 2013].

Wnioski

Czosnek zwyczajny może być efektywnym środkiem ograniczającym negatywne skutki narażenia organizmu na kadm. Działanie ochronne związane jest z występowaniem w czosnku związków siarkoorganicznych (sulfidowych), które m. in. ograniczają biodostępność kadmu.

Literatura

1. Andleeb S., Shaukat S. (2018). Protection against cadmium-induced abnormalities and hepatotoxicity in ovo by *Allium sativum*. Punjab University Journal of Zoology, 33(1), 34-41.
2. Adamis P.D.B., Cantú Mannarino S., Eleuterio E.C.A. (2009). Glutathione and gamma-glutamyl transferases are involved in the formation of cadmium–glutathione complex. FEBS Letters, 583, 1489-1492
4. Beato V.M., Orgaz F., Mansilla F., Montañó A. (2011). Changes in phenolic compounds in garlic (*Allium sativum* L.) owing to the cultivar and location of growth. Plant Foods Hum. Nutr., 2011, 66 (3), 218- 223.
5. Block E. (2010). Garlic and other Alliums. The lore and the sciences. The Royal Society of Chemistry, Thomas Graham House, Cambridge, 1-434.
6. Boonpeng S., Siripongvutikorn S., Sae-Wong Ch., Sutthirak P. (2014). The antioxidant and anti-cadmium toxicity properties of garlic extracts. Food Sci. Nutr., 2(6), 792-801.
7. Ciuba M., Dziadek K., Kukielka E., Oczkiewicz J., Piątkowska E., Leszczyńska T., Kopeć A. (2016). Porównanie składu chemicznego i zawartości składników bioaktywnych wybranych odmian czosnku. ŻYWNOŚĆ. Nauka. Technologia. Jakość, 5(108), 107-115.
8. Corzo-Martinez M., Corzo N., Villamiel M. (2007). Biological properties of onions and garlic. Trends in Food Sci. Technol., 18, 609-625.
9. Cullinane J., Thompson J., Bannigan J. (2007). Protection from cadmium teratogenity in the chick embryo by divalent metallic cations. Reprod. Toxicol., 24, 57-80.
10. Czeczot H., Skrzycki M. (2010). Cadmium-element completely unnecessary for the organism. Post. Hig. Med. Dośw., 64, 38-49.
11. Deresse D. (2010). Antibacterial effect of garlic (*Allium sativum*) on *Staphylococcus aureus*: An in vitro study. Asian J. Med. Sci., 2, 62-65.
12. Dżugan M., Kleban E., Balawejder M., Leżański P., Pogocki D. (2011a). Effect of irradiation on the chemical composition and antioxidant activity of garlic (*Allium sativum* L.). W: Xenobiotics. Environmental exposure, toxicity and physiological response (red. Dżugan M., Formicki G.), Wyd. Uniwersytetu Rzeszowskiego, Rzeszów, 305-317.
13. Dżugan M., Lis M.W., Droba M., Niedziółka J.W. (2012). Protective effect of zinc on cadmium embryotoxicity and antioxidant status of blood plasma in newly hatched chicks. J. Environ. Sci. Health, Part A, 47, 1-6.
14. Dżugan M. (2013). Bioactive components of garlic and their effect on the reduction cadmium toxicity in food. Wydawnictwo UR Rzeszów, Rzeszów, 1-126.
15. El-Sayyad H.I., Abou-El-Naga A.M., Gadallah A.A., Bakr I.H. (2010). Protective effects of *Allium sativum* against defects of hypercholesterolemia on pregnant rats and their offspring. Int. J. Clin. Exp. Med., 3(2), 152-163.
16. Fenwick G.R., Hanley A.B. (1985).The genus Allium-Part 3. Medicinal effects. CRC Crit. Rev. Food Sci. Nutr., 1, 1-74.
17. Gorinstein S., Drzewiecki J., Leontowicz H., Leontowicz M., Najman K., Jastrzebski Z., et al. (2005). Comparison of the bioactive compounds and antioxidant potentials of fresh and cooked Polish, Ukrainian, and Israeli garlic. J. Agric. Food Chem., 53, 2726-2732.
18. Kaczyńska A., Zajączkowski M., Grzybiak M. (2015). Toksyczny wpływ kadmu na rośliny i człowieka. Ann. Acad. Med. Gedan., 45, 65-70.
19. Kędzia A. (2010). Przeciwdrobnoustrojowe działanie czosnku (*Allium sativum* L.). Post. Fitoterapii, 1, 46-52.
21. Khar A., Banerjee K., Jadhav M., Lawandea K.E. (2011) Evaluation of garlic ecotypes for allicin and other allyl thiosulphinates. Food Chem., 128(4), 988-996.
23. Lawal A.O., Ellis E.M. (2011). The chemopreventive effects of aged garlic extract against cadmium-induced toxicity. Environ Toxicol Pharmacol., 32(2), 266-274.
24. Kwiecień H. (2008). Chemia i aktywność biologiczna czosnku. Wiad. Chem., 62, 9–10.
25. Lawson L.D. (1998). Garlic: A review of its medicinal effects and indicated active compounds (red. Lawson L.D. and R. Bauer), Phytomedicines of Europe. Chemistry and Biological Activity. Series 691, American Chemical Society, Washington, pp. 176-209.
26. Mansoub N.H. (2011). Comparative effects of using garlic as probiotic on performance and serum composition of broiler chickens. Ann. Biol. Res., 2(3), 486-490.

27. Majewski M. (2014). *Allium sativum*: facts and myths regarding human health. *Rocz. Panstw. Zakł. Hig.*, 65, 1-8.
28. Matysiak M., Gaweł-Bęben K., Rybczyńska K., Gmiński J., Surma S. (2015). Porównanie wybranych właściwości biologicznych czosnku (*Allium sativum* L.) pochodzącego z Polski i Chin. *ŻYWNOŚĆ. Nauka. Technologia. Jakość*, 2(99), 160 – 169.
29. Marciniak K., Włodarczyk – Marciniak B. (2008). Przeciwnowotworowe własności czosnku. *Post. Fitoterapii*, 9, 90 – 95.
30. Massadeh A.M., Al-Safi S.A., Momani I.F., Alomary A.A., Jaradat Q.M., Alkofahi A.S. (2007). Garlic (*Allium sativum* L.) as a Potential Antidote for Cadmium and Lead Intoxication: cadmium and Lead Distribution and Analysis in Different Mice Organs. *Biol. Trace. Elem. Res.*, 120, 227-234.
31. Omar S.H., Al-Wabel N.A. (2010). Organosulfur compounds and possible mechanism of garlic in cancer. *Saudi Pharm. J.*, 18, 51–58.
32. Ponnusamy M., Pari L. (2011). Protective role of diallyl tetrasulfide on cadmium-induced testicular damage in adult rats: a biochemical and histological study. *Toxicol Ind Health*, 27(5), 407-416.
33. Rani A., Kumar A., Lal A., Pant M. (2014). Cellular mechanisms of cadmium-induced toxicity: a review. *Int J Environ Health Res.* 24(4):378-99.
34. Sharma V., Sharma A., Kansal L. (2010). The effect of oral administration of *Allium sativum* extracts on lead nitrate induced toxicity in male mice. *Food Chem Toxicol.*, 48(3), 928-936.
35. Świdorski F., Dąbrowska M., Rusaczek A., Waszkiewicz-Robak B. (2007). Bioactive substances of garlic and their role in dietoprophylaxis and ditotherapy. *Rocz. Panst. Zakł. Hig.*, 58(1), 41-46.
36. Tsai Ch.-W., Chen H.-W., Sheen L.-Y., Lii Ch.-K. (2012). Garlic: Health benefits and actions. Review article. *Biomedicine XXX*, 1-13.
37. Vargas A., Zeisser-Labouèbe M., Lange N., Gurny R., Delie F. (2007). The chick embryo and its chorioallantoic membrane (CAM) for the in vivo evaluation of drug delivery systems. *Adv. Drug Deliv. Rev.*, 59, 1162-1176.
38. Wang L., Chen D., Cao J., Liu Z. 2009. Protective effect of N-acetylcysteine on experimental chronic cadmium nephrotoxicity in immature female rats. *Hum. Exp. Toxicol.* April., 28(4), 221-229.

ALINA KUNICKA-STYCZYŃSKA¹

¹*Zakład Mikrobiologii Technicznej, Instytut Technologii Fermentacji i Mikrobiologii,
Wydział Biotechnologii i Nauk o Żywności, Politechnika Łódzka w Łodzi*

BIOAKTYWNE SUBSTANCJE POCHODZENIA ROŚLINNEGO W KONSERWACJI I STABILIZACJI ŻYWNOŚCI

Wprowadzenie

Olejki eteryczne i ekstrakty roślinne od wieków były świadomie używane przez człowieka do aromatyzowania i stabilizacji żywności oraz kosmetyków oraz jako farmaceutyki. Źródła historyczne dokumentują zarówno sposób pozyskiwania olejków eterycznych, jak i ich zastosowanie w Indiach (5000 p.n.e.), Mezopotamii i Grecji (3000 p.n.e.) już w czasach starożytnych [Schmidt, 2010]. Olejki eteryczne i ekstrakty roślinne współcześnie cieszą się niesłabnącą popularnością, jako naturalne, nietoksyczne w dawkach akceptowalnych organoleptycznie, przyjazne środowisku i biodegradowalne składniki produktów spożywczych. Zastosowanie substancji pochodzenia naturalnego w produkcji żywności w skali wielkoprzemysłowej nie jest proste. Podstawowym problemem jest brak powtarzalnego, ściśle zdefiniowanego składu chemicznego olejków i ekstraktów roślinnych różnych partii surowca, co stwarza ryzyko braku powtarzalności cech organoleptycznych produktu końcowego. Jednakże, silnym argumentem jest możliwość wytworzenia unikatowego produktu sygnowanego etykietą „naturalny”, czy „ekologiczny”, co skutkuje wzmożonym zainteresowaniem i wzrostem akceptacji klienta. Aktywne biologicznie substancje pochodzenia naturalnego, oprócz funkcji aromatyzującej, ze względu na własności przeciwdrobnoustrojowe, mogą stanowić element układu konserwującego. Celem opracowania jest przedstawienie możliwości wykorzystania olejków eterycznych i ekstraktów roślinnych do stabilizacji mikrobiologicznej żywności.

Olejki eteryczne jako surowiec w produkcji żywności

Miarą zainteresowania olejkami eterycznymi są liczne prace nad ich pozyskiwaniem oraz poszukiwanie nowych źródeł surowca roślinnego o wyróżniającym się profilu zapachowym. Uznaje się, że spośród ponad 3000 scharakteryzowanych olejków eterycznych, jedna dziesiąta jest wykorzystywana komercyjnie [Bakkali i in. 2008; Raut i Karuppaiyil, 2015]. Olejki eteryczne definiuje się jako wieloskładnikowe, nierozpuszczalne w wodzie mieszaniny lotnych, wtórnych metabolitów roślin. Definicja ta nie jest w pełni akceptowana przez środowisko naukowe, gdyż nie uwzględnia wszystkich cech charakterystycznych tych substancji

[Dima i Dima, 2015]. Ze względu na komercyjne wykorzystanie olejków, za obowiązującą przyjmuje się definicję International Standards Organization (ISO), limitującą sposoby ich pozyskiwania [ISO 9235:2013] do destylacji materiału roślinnego z parą wodną, metodą hydrodestylacji, suchą destylację, czy tłoczenie na zimno. Dopuszczane są także różne metody przetwarzania tak pozyskiwanych olejków eterycznych. Ponieważ olejki mogą zawierać od kilkudziesięciu do kilkuset związków [Kalemba i Kunicka, 2003; Bakkali i in. 2008], ich standaryzacja opiera się na wypełnieniu ram specyfikacji, ustalonej dla konkretnych, najczęściej stosowanych olejków, uwzględniających ich unikatowy profil chemiczny. Zgodnie z normami międzynarodowymi ISO i Farmakopeą Europejską taka specyfikacja powinna obejmować: pochodzenie botaniczne i własności fizykochemiczne olejku, jego skład chemiczny obejmujący grupy chemiczne składników podany w procentach, kluczowe składniki wyliczonych grup chemicznych, obecność składników śladowych lub stężenie składników niezdefiniowanych [Smith i in., 2005]. Miernikiem jakości olejku jest zawartość (zwykle podana jako zakres w %) składników tworzących charakterystyczny profil chemiczny olejku. Rocznie, na potrzeby przemysłu wytwarza się około 40 000-60 000 ton olejków eterycznych, o szacowanej wartości rynkowej 700 milionów dolarów amerykańskich [Burt, 2004; Dima i Dima, 2015].

Czy olejki eteryczne i ekstrakty roślinne są bezpieczne?

Rośliny oraz substancje pozyskiwane z roślin stanowią integralną część życia ludzi, a ich zastosowania są wynikiem oceny empirycznej. Teorie uzasadniające bezpieczeństwo stosowania olejków eterycznych opierają się na ich historycznie udowodnionym, długotrwałym użyciu oraz naturalnej limitacji dawki warunkowanej cechami sensorycznymi [Dima i Dima, 2015]. Amerykańska komisja Food and Drug Administration (FDA), biorąc pod uwagę te aspekty historyczne, uznała 172 olejki eteryczne jako bezpieczne dodatki do żywności, nadając im status GRAS (generally recognized as safe) [FDA Essential oil gras list, 1998]. Nie zaprzestano jednak badań składu chemicznego olejków, ani badań toksykologicznych. Zarówno FDA, jak i inne organizacje międzynarodowe takie jak: Komisja Kodeksu Żywnościowego FAO/WHO, Flavor and Extract Manufactures Association (FEMA), International Organization of Flavor Industries (IOFI), czy Council of Europe (CoE) zalecają przestrzeganie standardów zebranych w *Codex Alimentarius* i Food Chemical Codex. Ustalono protokoły analiz chemicznych i toksykologicznych oraz zasady dobrej praktyki przetwarzania roślin aromatycznych i olejków eterycznych. Ponadto, ustalono ilościowe zakresy maksymalnej i minimalnej zawartości głównych składników olejków eterycznych. Ustanowiono trzy klasy toksyczności składników olejków eterycznych. Pierwsza klasa toksyczności, zawiera składniki o niskiej

toksyczności, nie wymagające specjalnych badań, gdzie dla 5% populacji (piąty percentyl) nie stwierdzono negatywnych skutków (no observed effect level – NOEL) dawki 3,0 mg/kg dziennie. Analogicznie, druga klasa toksyczności obejmuje składniki klasyfikowane jako NOEL w dawce 0,91 mg/kg dziennie, natomiast do trzeciej klasy toksyczności zalicza się składniki o znaczącej toksyczności – NOEL 0,15 mg/kg dziennie dla piątego percentylu populacji. Niezdefiniowane składniki olejków eterycznych grupowane są w trzeciej klasie toksyczności [Adams i Taylor, 2010; Dima i Dima, 2015]. Często cytowanym w literaturze przykładem jest stosowany powszechnie w przemyśle spożywczym olejek kolendry, zaliczany do pierwszej klasy toksyczności. Zakres bezpiecznych spożywanych dziennie dawek dla tego olejku jest szeroki i wynosi od 0,3624 mg lub 0,00604 mg/kg (według FEMA) do 2,9476 mg lub 0,0478 mg/kg (według National Academy of Science) [Burdock i Carabin, 2009; Dima i Dima, 2015]. W opraciu o wytyczne FEMA ustalono maksymalne ilości olejku kolendrowego, które mogą być stosowane w produkcji żywności. Do produktów mięsnych olejek kolendrowy może być dodawany w ilości 68,47 ppm, napojów alkoholowych – 8,94 ppm, pieczywa – 62,06 ppm, mrożonych produktów mlecznych – 47,35 ppm, gumy do żucia – 6,62 ppm [Burdock i Carabin, 2009]. Niektóre składniki olejków eterycznych, np.: karwakrol, karwon, aldehyd cynamonowy, cytral, *p*-cymen, eugenol, limonen, linalol, wanilina, mentol i tymol w krajach Unii Europejskiej uznawane są za bezpieczne [Hyldgaard i in., 2012; Demyttenaere i Recent, 2010].

W Polsce, zgodnie z obowiązującym Rozporządzeniem Ministra Zdrowia z dnia 22 listopada 2010 r. w sprawie dozwolonych substancji dodatkowych (Dz.U. 2010 nr 232 poz. 1525) z późniejszymi zmianami, olejki eteryczne nie zostały wyszczególnione jako dodatki do żywności [Ministerstwo Zdrowia, 2010]. Obecnie, w krajach Unii Europejskiej nowy dodatek do żywności może być wprowadzony w skali przemysłowej po uzyskaniu pozytywnej opinii Komisji Europejskiej EFSA (European Food Safety Authority). Bezpieczeństwo proponowanej jako dodatek do żywności substancji powinno być udokumentowane w konkretnym jej zastosowaniu (<http://www.efsa.europa.eu/en/topics/topic/additives.htm>). Poza Unią Europejską, np. w Chinach, opinie dopuszczające nowe dodatki do żywności wydaje agenda rządowa CFAA (China Food Additives Association) (<http://www.cfaa.cn/english.htm>) [Hintz i in., 2015].

Inne uwarunkowania zastosowania olejków eterycznych w konserwacji żywności

Substancja pełniąca funkcję stabilizatora i konserwanta żywności powinna spełniać następujące kryteria: (i) wykazywać szerokie spektrum działania przeciwutleniającego i przeciwdrobnoustrojowego, (ii) nie powinna powodować

antybiotykooporności drobnoustrojów, (iii) powinna być bezpieczna dla konsumentów, (iv) powszechnie akceptowana przez konsumentów, (v) tania i dostępna dla producentów żywności [Calo i in., 2015; Callaway i in., 2011]. Przewagą substancji pochodzenia roślinnego nad konserwantami syntetycznymi jest akceptacja konsumentów, bezpieczeństwo w stosowanych dawkach, dostępność oraz fakt, że drobnoustroje nie nabywają na nie oporności. Ponieważ wtórne metabolity roślin stanowią element systemu obronnego przed fitopatogenami, praktycznie wszystkie olejki eteryczne i ekstrakty roślinne wykazują działanie przeciwdrobnoustrojowe, przy czym spektrum tego działania jest bardzo zróżnicowane.

Skuteczność bójcza wobec drobnoustrojów zależy przede wszystkim od składu jakościowego i ilościowego substancji oraz jej stężenia w matrycy żywności. Hydrofobowość składników olejków eterycznych i ekstraktów roślinnych ogranicza ich dyfuzję w żywności. Ponadto, obniżenie skuteczności przeciwdrobnoustrojowej może być wynikiem interakcji ze składnikami matrycy żywności, takimi jak, tłuszcze, skrobia czy białka [Burt, 2004; Rattanachaikunsopon i Phumkhachorn, 2010; Hyldgaard i in., 2012;]. Do czynników istotnie wpływających na aktywność przeciwdrobnoustrojową zalicza się aktywność enzymów matrycy, aktywność wody, pH, temperaturę oraz liczbę drobnoustrojów zanieczyszczających [Kalemba i Kunicka, 2003; Hyldgaard i in., 2012; Calo i in., 2015]. W rezultacie, olejki eteryczne i ekstrakty roślinne w warunkach *in vitro* zwykle wykazują aktywność w znacznie niższych stężeniach niż w matrycach żywności. Najniższe stężenie olejków konieczne do zahamowania wzrostu drobnoustrojów w matrycy żywności może być ponad 1000-krotnie wyższe, niż w warunkach modelowych w badaniach *in vitro* [Burt, 2004; Bakkali i in., 2008]. Skalę tych różnic pokazują badania Gill i in. (2002) prowadzone dla olejku kolendry. Pomimo, że olejek ten w warunkach *in vitro* wykazywał znaczące działanie przeciw *Listeria monocytogenes* w stężeniu 0,018%, to stosowany do konserwacji szynki w stężeniu 6% nie hamował rozwoju tych bakterii. Zawartość olejków eterycznych akceptowana sensorycznie zależy od jego rodzaju, ale zwykle nie przekracza 1% w żywności. Wysokie stężenie olejku skutkuje ograniczeniem jego zastosowania wyłącznie do żywności mocno przyprawianej, gdzie duża ilość przypraw jest naturalną cechą produktu.

Dla zwiększenia aktywności olejków eterycznych stosuje się dodatkowe zabiegi. Obniżenie pH żywności powoduje zwiększenie ich rozpuszczalności i stabilności. Zaleca się także zwiększenie zawartości soli, czy obniżenie temperatury przechowywania żywności [Burt, 2004; Friedly i in., 2009; Calo i in., 2015]. Zabiegi te jednak nie kompensują konieczności stosowania olejków eterycznych i ekstraktów roślinnych w wysokich stężeniach. Skuteczną strategią wydaje się być wprowadzanie

olejków eterycznych do opakowań aktywnych, czy wnoszenie ich do produktów w formie mikrokapsulek.

Substancje pochodzenia naturalnego jako składniki opakowań aktywnych

Efekt niekorzystnych zmian organoleptycznych żywności może być zminimalizowany przez wprowadzenie olejków eterycznych i ekstraktów roślinnych do aktywnych opakowań przeciwmikrobiologicznych. Opakowanie aktywne wykazuje interakcje z produktem, ograniczając procesy utleniania i rozwój drobnoustrojów, co skutkuje wydłużeniem okresu trwałości produktu. Aktywne biologicznie substancje roślinne stanowią integralny składnik materiału opakowania, bądź są unieruchamiane na nośnikach i wprowadzane w osobnych saszetkach, a ich stopniowe uwalnianie spowalnia proces psucia produktu [Ribeiro-Santos i in., 2017a; Ribeiro-Santos i in., 2017b].

W technologii opakowań aktywnych stosuje się filmy i powłoki, w tym jadalne i niejadalne. Filmy i powłoki jadalne wykonane są na bazie polisacharydów (np. chitozan, alginiany, karagen) i białek (np. żelatyna, kazeinian sodu, białka soi) [Atares i Chiralt, 2016; Ribeiro-Santos i in., 2017a]. Filmy stanowią osobno wytworzone cienkie arkusze, nanoszone na produkt jako opakowanie, bądź też stosowane do przekładania warstw produktu. Powłoki natomiast są nanoszone cienką warstwą bezpośrednio na produkt podczas jego wytwarzania [Krochta, 2002]. Ponieważ olejki eteryczne i ekstrakty roślinne stanowią integralny składnik chemiczny filmów czy powłok, oddziałują z polimerem i plastyfikatorem. Uwalnianie ich aktywnych składników zależy od wielu czynników, takich jak: oddziaływania elektrostatyczne z łańcuchami polimerów, ciśnienie osmotyczne, zmiany strukturalne, pH, temperatura, aktywność wody, skład atmosfery opakowania [Avila-Sosa i in., 2012]. Stwierdzono, że dla zachowania odpowiedniej trwałości i utrzymania korzystnego profilu smakowo-zapachowego, potrzeba znacznie mniejszych ilości olejków eterycznych wnoszonych w formie filmów i powłok jadalnych w porównaniu z ich ilością dodawaną bezpośrednio do produktu [Atares i Chiralt, 2016; Ponce i in., 2008]. W ostatnich latach prowadzi się intensywne prace nad zastosowaniem, do konserwacji żywności, jadalnych filmów i powłok z dodatkiem olejków eterycznych. Badania z włączeniem naturalnie zanieczyszczonych mikrobiologicznie, bądź kontaminowanych, matryc owoców, warzyw, serów, mięsa i ryb [Perdones i in., 2012; Otero i in., 2014; Wu i in., 2014; Salvia-Trujillo i in., 2015], dowodzą użyteczności tej technologii. W Tabeli 1 przedstawiono przykłady badań aktywności przeciwdrobnoustrojowej filmów i powłok w matrycach żywności.

Tabela 1. Przykłady badań aktywności przeciwdrobnoustrojowej filmów i powłok zawierających substancje pochodzenia roślinnego w matrycach żywności

Matryca	Olejek eteryczny lub jego składnik	Drobnoustroje	Produkt	Literatura
Alginian*	oregano	<i>Penicillium</i> sp. <i>Staphylococcus aureus</i>	pizza	Botre i in., 2009
	trawy cytrynowej	<i>Escherichia coli</i> bakterie psychrofilne	jabłka	Salvia-Trujillo i in., 2015
	cynamonowy, imbirowy, trawy cytrynowej	<i>Salmonella enteritidis</i> ogólna liczba bakterii liczba drożdży i pleśni	melon	Raybaudi-Massilia i in., 2008
Chitozan*	cytrynowy	<i>Botrytis cinerea</i>	truskawki	Perdones i in., 2012
	bergamotkowy	ogólna liczba drobnoustrojów drożdże i pleśnie	winigrona	Sánchez-González i in., 2011
Polietylen o małej gęstości (LDPE)	linalool chawikol	<i>Escherichia coli</i> <i>Listeria innocua</i>	ser Cheddar	Suppakul i in., 2008
Metyloceluloza i polikaprolakton /alginian (PCL/ALG)	oregano/trawy cytrynowej/ziela angielskiego gałki muszkatałowej/trawy cytrynowej/cytral	<i>Listeria monocytogenes</i> <i>Escherichia coli</i> <i>Salmonella typhimurium</i>	świeże brokuły	Takala i in., 2013
Polipropylen (PP), polietylen i poli(tereftalane tyleny) (PET)	oregano	<i>Escherichia coli</i> O157:H7	ser owczy	Otero i in., 2014
Białka soi*	oregano tymiankowy	<i>Pseudomonas</i> sp. <i>Staphylococcus</i> sp.	wołowina mielona	Emiroğlu i in., 2010
Białka serwatki*	oregano	<i>Pseudomonas</i> sp. ogólna liczba bakterii bakterie mlekowe	wołowina	Zinoviadou i in., 2009
Żelatyna skóry karpia srebrnego*	oregano cynamonowy anyżowy	ogólna liczba drobnoustrojów	karp	Wu i in., 2014
Żelatyna* żelatyna/ chitozan	goździkowy	<i>Pseudomonas</i> sp. <i>Enterobacteriaceae</i> ogólna liczba bakterii bakterie mlekowe	dorsz	Gómez-Estaca i in., 2010

*filmy i powłoki jadalne

Kapsułkowanie olejków eterycznych i ekstraktów roślinnych stanowi kolejną technologię, umożliwiającą ich wprowadzanie do żywności, z zachowaniem walorów organoleptycznych produktów. Substancje czynne zostają opłaszczane polimerami, tworząc kapsułki o rozmiarach 1-1000 µm (mikrokapsułki) lub 1-100 nm (nanokapsułki). Te ostatnie są najczęściej wykorzystywane w przemyśle spożywczym

[Ribeiro-Santos i in., 2017]. Wśród polimerów stosowanych do zamykania olejków eterycznych zwykle spotyka się polietylen, węglowodany (skobia, celuloza, chitozan), białka (kazeina, albumina, żelatyna), tłuszcze (kwasy tłuszczowe, woski, parafina) i gumi (alginiany, karageniany, guma arabska) [Da Silva i in., 2014]. Technika kapsułkowania zwiększa stabilność olejków eterycznych i zapobiega ich fotooksydacji, pozwalając na zachowanie własności przeciwdrobnoustrojowych [Shamaei i in., 2017]. Olejki zamknięte w nanokapsułkach, ze względu na zwiększenie stosunku powierzchni do objętości, charakteryzują się większą biodostępnością. Przykładem wzmocnienia działania olejku jest wzrost aktywności olejku miętowego, w formie kapsułek w nanożelu chitozan-kwas cynamonowy, wobec toksynotwórczych pleśni *Aspergillus flavus* [Beyki i in., 2014].

Podsumowanie

Olejki eteryczne i ekstrakty roślinne, oprócz funkcji aromatyzujących, mogą pełnić rolę naturalnych konserwantów. Stosowanie tych substancji jako dodatku do żywności w stężeniach akceptowanych sensorycznie nie zabezpiecza jednak stabilności mikrobiologicznej produktu. Projektowanie systemów konserwujących łączących substancje pochodzenia naturalnego i konserwanty syntetyczne, pozwala znacząco obniżyć stężenie tych ostatnich. Trendem ostatnich lat jest włączanie olejków eterycznych do aktywnych opakowań przeciwmikrobiologicznych, a folie i powłoki inkorporowane olejkami eterycznymi spełniają funkcje konserwujące z zachowaniem profilu sensorycznego produktów. Nanotechnologie otwierają szerokie możliwości wprowadzania olejków eterycznych do matryc spożywczych, a nanokapsułki olejków wykazują wysoką aktywność przeciwdrobnoustrojową.

Literatura

1. Adams T.B., Taylor S.V. (2010). Safety evaluation of essential oils: a constituent-based approach, w: Handbook of Essential Oils. Science, Technology, and Applications (red. K.H.C. Baser, G. Buchbauer). Taylor & Francis Group, 186–205.
2. Atarés L., Chiralt A. (2016). Essential oils as additives in biodegradable films and coatings for active food packaging. Trends in Food Science & Technology, 48, 51–62.
3. Avila-Sosa R., Palou E., Jimenez-Munguía M.T., Nevarez-Moorillon G.V., Navarro-Cruz A.R., López-Malo A. (2012). Antifungal activity by vapor contact of essential oils added to amaranth, chitosan, or starch edible films. International Journal of Food Microbiology, 153, 66–72.
4. Bakkali F., Averbeck S., Averbeck D., Idaomar M. (2008). Biological effects of essential oils - a review. Food and Chemical Toxicology, 46, 446–475.
5. Beyki M., Zhavah S., Khalili S.T., Rahmani-Cherati T., Abollahi A., Bayat M., Tabatabaei M., Mohsenifar A. (2014). Encapsulation of *Mentha piperita* essential oils in chitosan-cinnamic acid nanogel with enhanced antimicrobial activity against *Aspergillus flavus*. Industrial Crops and Products, 54, 310–319.

6. Botre D.A., Soares N.F.F., Espitia P.J.P., Sousa S., Renhe I.R.T. (2010). Avaliação de filme incorporado com óleo essencial de oregano para conservação de pizza pronta. *Revista Ceres*, 57, 283–291.
7. Burdock G.A., Carabin I.G. (2009). Safety assessment of coriander (*Coriandrum sativum* L.) essential oil as a food ingredient. *Food and Chemical Toxicology*, 47, 22–34.
8. Burt S. (2004). Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods - a review. *International Journal of Food Microbiology*, 94, 223–253.
9. Callaway T.R., Carroll J.A., Arthington J.D., Edrington T.S., Anderson R.C., Ricke S.C., Crandall P., Collier P., Nisbet D.J. (2011). Citrus products and their use against bacteria: potential health and cost benefits, w: *Nutrients, Dietary Supplements, and Nutraceuticals: Cost Analysis Versus Clinical Benefits* (red. R. Watson, J.L. Gerald, V.R. Preedy). New York, NY, Humana Press, 277–286.
10. Calo J.R., Crandall P.G., O'Bryan C.A., Ricke S.C. (2015). Essential oils as antimicrobials in food systems - a review. *Food Control*, 54, 111–119.
11. Da Silva P.T., Fries L.L.M., De Menezes C.R., Holkem A.T., Schwan C.L., Wigmann E.F., Bastos J.D.O., Da Silva C.D.B. (2014). Microencapsulation: concepts, mechanisms, methods and some applications in food technology. *Ciência Rural*, 44, 1304–1311.
12. Demyttenaere J.C.R., Reent E.U. (2010). Legislation on flavors and fragrances and its impact on essential oils, w: *Handbook of Essential Oils. Science, Technology, and Applications* (red. K.H.C. Baser, G. Buchbauer). Taylor & Francis Group, 917–947.
13. Dima C., Dima S. (2015). Essential oils in foods: extraction, stabilization, and toxicity. *Current Opinion in Food Science*, 5, 29–35.
14. Emiroğlu Z.K., Yemis G.P., Coskun B. K., Candogan K. (2010). Antimicrobial activity of soy edible films incorporated with thyme and oregano essential oils on fresh ground beef patties. *Meat Science*, 86, 283–288.
15. FDA Essential oil gras list, Food And Drugs Chapter I. Food And Drug Administration, Department of Health and Human Services, Part 582, Substances Generally Recognized As Safe - Table of Contents Subpart A, General Provisions, Sec. 582.20 Essential oils, oleoresins (solvent-free), and natural extractives (including distillates), 1998, https://www.fda.gov/oc/ohrt/essential_oils.html (dostęp on-line: 28.04.2018).
16. Friedly E.C., Crandall P.G., Ricke S.C., Roman M., O'Bryan C., Chalova V.I. (2009). *In vitro* antilisterial effects of citrus oil fractions in combination with organic acids. *Journal of Food Science*, 74, M67–M72.
17. Gill A.O., Delaquis P., Russo P., Holley R.A. (2002). Evaluation of antilisterial action of cilantro oil on vacuum packed ham. *International Journal of Food Microbiology*, 73, 83–92.
18. Gómez-Estaca J., López de Lacey A., López-Caballerol M.E., Gómez-Guillén M.C., Montero P. (2010). Biodegradable gelatine-chitosan films incorporated with essential oils as antimicrobial agents for fish preservation. *Food Microbiology*, 27, 889–896.
19. Hintz T., Matthews K.K., Di R. (2015). The use of plant antimicrobial compounds for food preservation. *BioMed Research International*, Article ID 246264, 1–12.
20. Hyldgaard M., Mygind T., Meyer R.L. (2012). Essential oils in food preservation: mode of action, synergies, and interactions with food matrix components. *Frontiers in Microbiology*, 3, 12, 1–24.
21. ISO 9235:2013. Aromatic natural raw materials – Vocabulary, <https://www.iso.org/standard/55022.html> (dostęp on-line: 4.05.2018)
22. Kalembe D., Kunicka A. (2003). Antibacterial and antifungal properties of essential oils. *Current Medicinal Chemistry*, 10, 813–829.
23. Krochta J.M. (2002). Proteins as raw materials for films and coatings: definitions, current status, and opportunities, w: *Protein-based films and coatings* (red. Gennadios A). CRC Press, Boca Raton, 21–61.
24. Otero V., Becerril R., Santos J.A., Rodríguez-Calleja J.M., Nerín C., García-López M.L. (2014). Evaluation of two antimicrobial packaging films against *Escherichia coli* O157: H7 strains *in vitro* and during storage of a Spanish ripened sheep cheese (Zamorano). *Food Control*, 42, 296–302.
25. Perdonés A., Sánchez-González L., Chiralt A., Vargas M. (2012). Effect of chitosan-lemon essential oil coatings on storage-keeping quality of strawberry. *Postharvest Biology and Technology*, 70, 32–41.
26. Ponce A.G., Roura S.I., del Valle C.E., Moreira M.R. (2008). Antimicrobial and antioxidant activities of edible coatings enriched with natural plant extracts: *in vitro* and *in vivo* studies. *Postharvest Biology and Technology*, 49, 294–300.

27. Rattanachaikunsopon P., Phumkhachorn P. (2010). Assessment of factors influencing antimicrobial activity of carvacrol and cymene against *Vibrio cholera* in food. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 110, 614–619.
28. Raut J.S., Karuppayil S.M. (2014). A status review on the medicinal properties of essential oils. *Industrial Crops and Products*, 62, 250–264.
29. Raybaudi-Massilia R., Mosqueda-Melgar J., Martín-Belloso O. (2008). Edible alginate-based coating as carrier of antimicrobials to improve shelf-life and safety of fresh-cut melon. *International Journal of Food Microbiology*, 121, 313–327.
30. Ribeiro-Santos R., Andrade M., de Melo N.R., Sanches-Silva A. (2017a). Use of essential oils in active food packaging: recent advances and future trends. *Trends in Food Science & Technology*, 61, 132–140.
31. Ribeiro-Santos R., Andrade M., Sanches-Silva A. (2017b). Application of encapsulated essential oils as antimicrobial agents in food packaging. *Current Opinion in Food Science*, 14, 78–84.
32. Rozporządzenie Ministra Zdrowia z dnia 22 listopada 2010 r. w sprawie dozwolonych substancji dodatkowych (Dz.U. 2010 nr 232 poz. 1525), <http://isap.sejm.gov.pl> (dostęp on-line: 1.05.2018).
33. Salvia-Trujillo L., Rojas-Graü M.A., Soliva-Fortuny R., Martín-Belloso O. (2015). Use of antimicrobial nanoemulsions as edible coatings: impact on safety and quality attributes of fresh-cut Fuji apples. *Postharvest Biology and Technology*, 105, 8–16.
34. Sánchez-González L., Pastor C., Vargas M., Chiralt A., González-Martínez C., Cháfer M. (2011). Effect of hydroxypropylmethylcellulose and chitosan coatings with and without bergamot essential oil on quality and safety of coldstored grapes. *Postharvest Biology and Technology*, 60, 57–63.
35. Schmidt E. (2010). Production of essential oils, w: *Handbook of Essential Oils. Science, Technology, and Applications* (red. K.H.C. Baser, G. Buchbauer). Taylor & Francis Group, 83–118.
36. Shamaei S., Seiedlou S.S., Aghbashlo M., Tsotsas E., Kharaghani A. (2017). Microencapsulation of walnut oil by spray drying: effects of wall material and drying conditions on physicochemical properties of microcapsules. *Innovative Food Science and Emerging Technology*, 39, 101–112.
37. Smith R.L., Cohen S.M., Doull J., Feron V.J., Goodman J.I., Marnett L.J., Portoghese P.S., Waddell W.J., Wagner B.M., Hall R.L., Higley N.A., Lucas-Gavin C., Adams T.B. (2005). A procedure for the safety evaluation of natural flavor complexes used as ingredients in food: essential oils. *Food and Chemical Toxicology*, 43, 345–363.
38. Suppakul P., Sonneveld K., Bigger S.W., Miltz J. (2008). Efficacy of polyethylenebased antimicrobial films containing principal constituents of basil. *LWT - Food Science and Technology*, 41, 779–788.
39. Takala P.N., Vu K.D., Salmieri S., Khan R.A., Lacroix M. (2013). Antibacterial effect of biodegradable active packaging on the growth of *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium* and *Listeria monocytogenes* in fresh broccoli stored at 4°C. *LWT - Food Science and Technology*, 53, 499–506.
40. Wu J., Ge S., Liu H., Wang S., Chen S., Wang J., Li J., Zhang Q. (2014). Properties and antimicrobial activity of silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) skin gelatinchitosan films incorporated with oregano essential oil for fish preservation. *Food Packaging and Shelf Life*, 2, 7–16.
41. Zinoviadou K.G., Koutsoumanis K.P., Biliaderis C.G. (2009). Physico-chemical properties of whey protein isolate films containing oregano oil and their antimicrobialaction against spoilage flora of fresh beef. *Meat Science*, 82, 338–345.

KINGA DZIADEK¹, ANNA ADÁMKOVÁ^{2,3},
EWELINA KUKIEŁKA¹, ANETA KOPEĆ¹

¹*Department of Human Nutrition, Faculty of Food Technology, University of Agriculture in Krakow, Poland*

²*Department of Food Analysis and Chemistry, Faculty of Technology,
Tomas Bata University in Zlín, Czech Republic*

³*Department of Quality of Agricultural Products, Faculty of Agrobiological Sciences, Food and Natural Resources,
Czech University of Life Sciences Prague, Czech Republic*

CHEMICAL COMPOSITION AND ANTIOXIDANT ACTIVITY OF TRADITIONAL AND NOVEL FERMENTED VEGETABLES

Abstract

The objective of this study was to compare the chemical composition and antioxidant activity of traditional (white cabbage, whole cucumber, cucumber puree), not well known (red cabbage) and novel (beetroot, tomato puree) fermented vegetables. In lyophilized material the basic chemical composition and carotenoids content were determined. The content of total polyphenols, anthocyanins and antioxidant activity were measured spectrophotometrically in extracts. The study confirmed the differences in chemical composition of traditional and novel fermented vegetables. The all fermented vegetables were characterized by the highest content of total carbohydrates. Anthocyanins were identified only in red cabbage, beetroot, tomato whereas in the red cabbage was the most of them. The fermented red cabbage had the higher antioxidant activity, however new fermented products such as tomato puree and beetroot had the lowest compared to traditional fermented vegetables. Fermented vegetables may be beneficial for the prevention of chronic non-communicable diseases. However, novel fermented vegetables require further research.

Keywords: fermented vegetables, red cabbage, beetroot, tomato, polyphenols, antioxidant activity

Introduction

Many conservation methods are used in modern food technology industry to prolong shelf life of food. Cooking, pasteurization, sterilization as well as the addition of preservatives are techniques which may guarantee safe food. However, these methods may also cause changes in the physical characteristics and chemical composition of food [Di Cagno and Coda, 2014]. Fermentation is one of the oldest, widespread and most economical method of food preservation which additionally enhance the nutritive value, improve sensory properties and make a safer product [Blandino et al., 2003].

The raw materials traditionally used for fermentation are vegetables, fruits, cereals, legumes, honey, milk, meat and fish [Hansen, 2002]. Lactic acid fermentation of vegetables and fruits has an industrial significance only for cabbages, cucumbers, and olives [Di Cagno and Coda, 2014]. Recently, in the Polish market, more often appear fermented products such as fermented red cabbage, beetroot and tomato puree. To our best knowledge in available literature there were not information concerning the chemical composition of these fermented vegetables. So there is a need to study these unknown products and their potential health benefits.

Fermented vegetables have a potential positive effect on human health. The fermentation causes the production of new compounds, such as lactic acid, amino acids, proteins, exopolysaccharides, which have antioxidant, anti-inflammatory and anti-carcinogenesis activities [Frias et al., 2017]. Additionally, the fermented vegetables contain high level of secondary plant metabolites and antioxidant compounds, such as polyphenols, ascorbic acid and carotenoids [Jaiswal et al., 2011].

Although the fermented vegetables are a rich source of nutrients and bioactive compounds with high antioxidant activity, each species of vegetables can have a different composition. The aim of this study was to compare the chemical composition, bioactive compounds content and antioxidant activity of traditional and novel fermented vegetables.

Material and Methods

Reagents

All the chemicals were of analytical grade. Potassium persulfate, hydrochloric acid, ferric chloride hexahydrate, acetone and n-hexane were obtained from Chempur (Poland), methanol from POCh (Poland) as well as chlorogenic acid, Folin-Ciocalteu reagent, 2,2'-Azino-bis(3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid (ABTS), 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) and 2,4,6- tris(2-pyridyl)-s-triazine (TPTZ) from Sigma-Aldrich (USA).

Research material

The tested materials were the traditional (white cabbage, whole cucumber, cucumber puree), not well known (red cabbage) and novel (beetroot, tomato puree) fermented vegetables which came from Fruits and Vegetable Processing Company "Agromil" from Miłówka (Poland). The fermented vegetables were mixed using hand blender (Bosch ErgoMixx MSM67170, Stuttgart, Federal Republic of Germany) as well as were used to determine the dry matter and to prepare the methanolic extracts. The remaining products were lyophilized (Christ Alpha 1-4, Osterode am Harz, Germany) and stored in plastic bags at room temperature until analysis.

Basic chemical composition

The pH of the fermented vegetables was measured by a pHmeter (CP-411, Elmetron). Titratable acidity was calculated by titrating the samples with 0.1 N sodium hydroxide with phenolphthalein as the indicator, according to PN-90/A-75101/04.

In mixed fermented vegetables the dry matter content was measured according to Fortuna and Rożnowski [2012]. In lyophilized material the basic chemical composition was determined using the AOAC methods [Horwitz and Latimer, 2005]. The content of total proteins was measured according to procedure no 950.36, crude fat - procedure no 935.38 and ash - procedure no 930.05. The total carbohydrates content was calculated with the using of equation: total carbohydrates=100-(protein+crude fat+ash) [Fortuna and Rożnowski, 2012]. The concentration of NaCl was measured using Mohr's method [Fortuna and Rożnowski, 2012].

Extracts preparation

Extracts were prepared by shaking one gram of the mixed fermented vegetables in 80 ml of 70% methanol at room temperature for 2 hours (Elpin Plus, water bath shaker type 357, Poland). Then the samples were centrifuged at 1500 rpm for 15 min (Centrifuge type MPW-340, Warsaw, Poland). Supernatants were stored at temperature -20 °C until analysis.

Bioactive compounds content

The level of total carotenoids was determined spectrophotometrically according to PN-EN 12136:2000 by extracting carotenoids from the lyophilized samples using acetone-hexane mixture (4:6 v/v). The absorbance was measured at 450 nm (spectrophotometer UV-1800, RayLeigh, Beijing Beifen-Ruili Analytical Instrument Co., Ltd., Beijing, China) and compared with a standard curve.

The content of total polyphenols and anthocyanins was measured spectrophotometrically in methanolic extracts. Polyphenols concentration was tested using the Folin-Ciocalteu reagent [Swain and Hillis, 1959]. The absorbance was measured at 760 nm (spectrophotometer UV-1800, RayLeigh, Beijing Beifen-Ruili Analytical Instrument Co., Ltd., Beijing, China) as well as the results were expressed as mg of chlorogenic acid (CGA) per 100 g of sample. The level of anthocyanins was studied by the pH differential method, using the pH 1.0 and pH 4.5 buffers [Benvenuti et al., 2004]. The absorbance was measured at 510 nm and 700 nm (spectrophotometer UV-1800, RayLeigh, Beijing Beifen-Ruili Analytical Instrument Co., Ltd., Beijing, China).

Antioxidant activity

The antioxidant activity was measured in extracts by the following methods: ABTS^{•+} (2,2'-Azino-bis(3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid)), DPPH[•] (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) and FRAP (ferric-reducing antioxidant power).

ABTS method

The determination of antioxidant activity using the free radical ABTS^{•+} was estimated as previously reported by Re et al. [1999] with minor modifications. The stock solution of the ABTS^{•+} was generated by dissolving 38.4 mg of 2,2'-Azino-bis(3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid) in 2 ml of distilled water in 10 ml volumetric flask. To the solution was added 1 ml of potassium persulfate (2.45 mM) and made up to mark with distilled water. The mixture was stored in the dark at room temperature for 16 hours. The working solution was obtained by diluting the stock solution with 70% methanol to obtain the absorbance of 0.740-0.750 at 734 nm. A 100-300 µl of the extract were transferred into a test tube and made up to 1 ml with 70% methanol. After mixing of a diluted extract with 2 ml of working solution of the ABTS^{•+}, the mixture was kept in dark at 30°C for 6 min.

DPPH method

The DPPH[•] assay was done according to Miliauskas et al. [2004] with some modifications. The stock solution of DPPH[•] was prepared by dissolving 6 mg of 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl in 100 ml of methanol. The working solution was obtained by diluting the stock solution with methanol to obtain the absorbance of 0.900-1.000 at 515 nm. A 100-300 µl of the extract were transferred into a test tube and made up to 1.5 ml with methanol. After mixing of a diluted extract with 3 ml of solution of the DPPH[•], the mixture was kept in dark at room temperature for 10 min.

FRAP method

The total reducing capability with using FRAP method, was determined as previously reported by Benzie and Strain [1996] with adaptations. Working solution of FRAP reagent was prepared by mixed 100 ml of 300 mM acetate buffer - pH 3.6, 10 ml of 10 mM 2,4,6- tris(2-pyridyl)-s-triazine (TPTZ) in a 40 mM hydrochloric acid solution and 10 ml of 20 mM ferric chloride hexahydrate. A 100-300 µl of the extract were transferred into a test tube and made up to 1 ml with 70% methanol. After mixing of a diluted extract with 3 ml of working solution of the FRAP reagent, the mixture was kept in dark at room temperature for 10 min.

The absorbance of the samples was measured at 734 nm in ABTS^{•+}, 515 nm in DPPH[•] and 593 nm in FRAP method (spectrophotometer UV-1800, RayLeigh, Beijing Beifen-Ruili Analytical Instrument Co., Ltd., Beijing, China). The obtained values were expressed as micromoles of Trolox equivalent per gram of sample (TEAC) based on a calibration curves.

Statistical analysis

Results were expressed as the means±standard deviation (SD). Differences between samples were analyzed using Statistica v. 13.1 software (Tulsa, OK, USA). Duncan's multiple range test was used for testing the differences. Correlations between the tested features were examined using Pearson's correlation. P values <0.05 were regarded as significant.

Results and Discussion

The values of pH were found in the range of 3.31 – 3.89 (Table 1). The highest titratable acidity was measured in white cabbage (2.77%) as well as the lowest in cucumber puree (0.91%). Pérez-Díaz et al. (2013) showed the similar results for white cabbage and cucumber. The significantly highest dry matter content was determined in white and red cabbage, however the lowest in whole cucumber and cucumber puree. The all fermented vegetables was characterized by the highest content of total carbohydrates (Table 2). The largest amount of these compounds was observed in tomato puree and the smallest in both whole cucumber and cucumber puree. The concentration of ash was the significantly highest in cucumber puree as well as the lowest in tomato puree. The protein content ranged from 6.61 g/100 g DW in beetroot to 15.84 g/100 g DW in whole cucumber. The whole cucumber was characterized by the significantly highest level of crude fat, whereas white and red cabbage, beetroot and tomato puree by the lowest. The highest concentration of NaCl was found in beetroot. The significantly differences in NaCl content between white and red cabbage as well as between whole cucumber and puree cucumber was not found. Pérez-Díaz et al. (2013) and Śmiechowska and Witt (2017) reported the similar values for white cabbage.

Table 1. Values of pH and titratable acidity of fermented vegetables

Sample	pH	Titratable acidity [%]
White cabbage	3.31±0.01 a	2.77±0.04 d
Whole cucumber	3.64±0.02 d	1.03±0.01 b
Cucumber puree	3.47±0.01 c	0.91±0.03 a
Red cabbage	3.89±0.01 e	1.09±0.04 b
Beetroot	3.36±0.01 b	1.18±0.03 c
Tomato puree	3.65±0.01 d	1.07±0.02 b

Mean values (n=3) denoted by different letters within the each column are statistically significant (p≤0.05).

Table 2. Basic chemical composition of fermented vegetables

Sample	Dry weight [g/100 g fw]	Ash [g/100 g dw]	Protein [g/100 g dw]	Crude fat [g/100 g dw]	Total carbohydrates [g/100 g dw]	NaCl [g/100 g fw]
White cabbage	11.56±0.09 d	18.00±0.14 b	11.16±0.08 b	0.38±0.08 a	70.46±0.27 b	1.98±0.16 b
Whole cucumber	4.73±0.14 a	37.87±0.24 d	15.84±0.85 d	3.17±0.68 c	43.13±0.42 a	2.32±0.08 c
Cucumber puree	4.71±0.04 a	42.82±0.12 e	12.58±0.25 c	1.78±0.11 b	42.82±0.02 a	2.44±0.08 c
Red cabbage	11.21±0.14 d	19.13±0.03 b	12.77±0.17 c	0.13±0.01 a	67.97±0.20 b	2.03±0.08 b
Beetroot	9.09±0.22 c	25.65±0.43 c	6.61±0.25 a	0.11±0.01 a	67.64±0.69 b	2.72±0.08 d
Tomato puree	8.03±0.09 b	11.42±0.41 a	7.12±0.14 a	0.46±0.10 a	80.99±4.45 c	1.30±0.08 a

FW - fresh weight, DW - dry weight

Mean values (n=3) denoted by different letters within the each column are statistically significant (p≤0.05).

Literature data showed the similar content of protein, higher content of crude fat and lower content of total carbohydrates in fermented white cabbage as well as the higher concentration of protein and the similar concentration of crude fat and total carbohydrates in fermented whole cucumber in comparison to results obtained in this research [Kunachowicz et al., 2017]. Additionally the USDA database indicated the larger concentration of protein as well as the smaller content of crude fat and total carbohydrates in fermented white cabbage and also the lower concentration of protein and higher content of crude fat and total carbohydrates in fermented whole cucumber [US Department of Agriculture, 2017]. To our best knowledge in available literature there were not information about basic chemical composition of fermented red cabbage, beetroot and tomato puree.

Table 3. The content of bioactive compounds in fermented vegetables

Sample	Total carotenoids [mg/100 g dw]	Total polyphenols [mg/100 g dw]	Total anthocyanins [mg/100 g dw]
White cabbage	8.23±0.04 c	2706.82±168.53 c	not determined
Whole cucumber	32.02±0.08 f	4388.68±248.26 d	not determined
Cucumber puree	28.82±0.05 e	2921.70±210.10 c	not determined
Red cabbage	6.54±0.04 b	4853.92±120.43 d	727.66±1.68 b
Beetroot	3.88±0.03 a	1573.76±69.55 a	11.00±0.01 a
Tomato puree	16.24±0.14 d	2110.89±264.52 b	11.96±0.01 a

DW-dry weight

Mean values (n=3) denoted by different letters within the each column are statistically significant (p≤0.05).

Statistically significant differences in the bioactive compounds content of studied fermented vegetables were found (Table 3). The highest concentration of total carotenoids was measured in whole cucumber and the lowest in beetroot. Carotenoids are fat-soluble compound [Habib et al., 2013]. Statistically significant correlation (tested using the Pearson's correlation) between the content of crude fat and the content of total carotenoids in studied fermented vegetables was found ($r=0.9173$). The total polyphenols content ranged from 1573.76 mg/100 g DW in beetroot to 4853.92 mg/100 g DW in red cabbage. Kazimierczak et al. [2014] who examined the fermented beetroot juices, found that this products contained lower concentration of total polyphenols then the fermented beetroot. The anthocyanins were identified only in red cabbage, beetroot and tomato, however in red cabbage was the most of them. Wiczkowski et al. [2015] showed the smaller amount of these compounds in fermented red cabbage.

The antioxidant activity was the highest in red cabbage whereas the lowest in tomato puree, which was confirm by the three used method: ABTS^{•+}, DPPH[•] and FRAP (Table 4). To our best knowledge in available literature there was only information about the antioxidant activity of fermented white cabbage. Kusznerewicz et al. [2008] who studied the ability to scavenge free radical ABTS^{•+} and DPPH[•] as well as Peñas et al. [2015] who used the ORAC method, demonstrated the lower antioxidant activity of fermented white cabbage.

The obtained results indicated that fermented white cabbage was characterized by the lower antioxidant activity than the fermented red cabbage, which had the highest value of all analyzed samples. Additionally, the fermented whole cucumber had a higher antioxidant activity in comparison to cucumber puree what is important from a nutritional point of view.

Table 4. Antioxidant activity of fermented vegetables

Sample	ABTS ^{•+} [μmol Trolox/g DW]	DPPH [•] [μmol Trolox/g DW]	FRAP [μmol Trolox/g DW]
White cabbage	324.21±15.31 c	206.12±0.01 c	349.17±1.65 c
Whole cucumber	363.46±5.92 d	222.16±22.16 c	361.55±8.49 d
Cucumber puree	137.65±4.45 b	197.63±16.67 c	89.72±4.79 a
Red cabbage	400.02±22.98 e	311.81±4.78 d	442.47±2.06 e
Beetroot	150.47±1.11 b	133.25±2.76 b	121.04±3.57 b
Tomato puree	92.01±0.80 a	49.89±8.00 a	85.25±0.86 a

DW-dry weight

Mean values (n=3) denoted by different letters are within the each column statistically significant ($p\leq 0.05$).

The relationship between the tested features in studied fermented vegetables was examined using Pearson's correlation (Table 5). The dependency of the total carotenoids content on the antioxidant activity measured using ABTS^{•+}, DPPH[•] and FRAP methods was very weak and negative. Statistically significant correlation between the concentration of total polyphenols and the antioxidant capacity in studied fermented vegetables was positive and strong. The relationship between the total anthocyanins content and the antioxidant activity, which was calculated only for red cabbage, beetroot and tomato, was positive and very strong. This data indicate that the polyphenols, including anthocyanins could be the main compounds in examined fermented vegetables, which are responsible for antioxidant activity. For this reason polyphenolic compounds should be explored more closely.

Table 5. Correlation matrix of bioactive compound content with antioxidant activity measured ABTS^{•+}, DPPH[•] and FRAP assays in fermented vegetables

	Total carotenoids	Total polyphenols	Total anthocyanins	ABTS^{•+}	DPPH[•]	FRAP
Total carotenoids	1	-	-	-	-	-
Total polyphenols	0.29762	1	-	-	-	-
Total anthocyanins	-0.31326*	0.98474*	1	-	-	-
ABTS^{•+}	-0.05651	0.82001	0.98141*	1	-	-
DPPH[•]	-0.00217	0.82349	0.94972*	0.84433	1	-
FRAP	-0.13943	0.80372	0.99584*	0.98865	0.81113	1

*The correlation was calculated only for samples in which total anthocyanins were identified: red cabbage, beetroot and tomato

Conclusion

The study confirmed the differences in chemical composition of selected fermented vegetables, which was characterized by the high content of bioactive compounds and antioxidant activity. The fermented red cabbage had the higher antioxidant activity, whereas other new fermented products such as tomato puree and beetroot had the lowest antioxidant activity compared to traditional fermented vegetables.

Fermented vegetables, due to the increase in content of polyphenols, may be beneficial for the prevention of chronic non-communicable diseases. Thus the fermentation process can be used not only to protect the food and to prolong its shelf life but also to produce functional foods. Additionally, fermented products are cheap,

with low energy value, hygienically safe and without toxicological problems. However, novel fermented vegetables examined in this study require further research.

Acknowledgements

The authors are grateful to Fruits and Vegetable Processing Company “Agromil” (Milówka, Poland) for providing research material.

This research was financed by the Ministry of Science and Higher Education of the Republic of Poland.

References

1. Benvenuti S., Pellati F., Melegari M., Bertelli D. (2004). Polyphenols, anthocyanins, ascorbic acid, and radical scavenging activity of rubus, ribes, and aronia. *Food Chemistry and Toxicology*, 69(3), 164–169.
2. Benzie I., Strain J. (1996). The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of “antioxidant power”: the FRAP assay. *Analytical Biochemistry*, 239(1), 70–6.
3. Blandino A., Al-Aseeri M. E., Pandiella S. S., Cantero D., Webb C. (2003). Cereal-based fermented foods and beverages. *Food Research International*, 36(6), 527–543.
4. Di Cagno R., Coda R. (2014). Fermented Vegetable Products. Reference Module in Food Science, 2, 875–883.
5. Fortuna T., Rożnowski J. (2012). Wybrane zagadnienia z chemii żywności: skrypt do ćwiczeń. Kraków: Wydawnictwo Uniwersytetu Rolniczego.
6. Frias J., Martínez-Villaluenga C., Peñas E. (2017). Fermented Foods in Health and Disease Prevention. Elsevier. Retrieved from <http://csu-cvmb.colostate.edu/Documents/erhs-fermentedfoods-HDprevention-2016.pdf>
7. Habib H. M., Kamal H., Ibrahim W. H., Dhaheri A. S. Al. (2013). Carotenoids, fat soluble vitamins and fatty acid profiles of 18 varieties of date seed oil. *Industrial Crops and Products*, 42(1), 567–572.
8. Hansen E. B. (2002). Commercial bacterial starter cultures for fermented foods of the future. *International Journal of Food Microbiology*, 78(1–2), 119–131.
9. Horwitz W., & Latimer G. W. (2005). Official methods of analysis of AOAC International (18th ed.). Gaithersburg: AOAC International.
10. Jaiswal A. K., Rajauria G., Abu-Ghannam N., Gupta S. (2011). Phenolic composition, antioxidant capacity and antibacterial activity of selected Irish Brassica vegetables. *Natural Product Communications*, 6(9), 1299–304.
11. Kazimierzak R., Hallmann E., Lipowski J., Drela N., Kowalik A., Püssa T., Rembiałkowska E. (2014). Beetroot (*Beta vulgaris* L.) and naturally fermented beetroot juices from organic and conventional production: Metabolomics, antioxidant levels and anticancer activity. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 94(13), 2618–2629.
12. Kunachowicz H., Przygoda B., Nadolna I., Iwanow K. (2017). Tabele składu i wartości odżywczej żywności = Food composition tables. Wydawnictwo Lekarskie PZWL.
13. Kusznierevicz B., Śmiechowska A., Bartoszek A., Namieśnik, J. (2008). The effect of heating and fermenting on antioxidant properties of white cabbage. *Food Chemistry*, 108(3), 853–861.
14. Miliauskas G., Venskutonis P. R., Van Beek T. A. (2004). Screening of radical scavenging activity of some medicinal and aromatic plant extracts. *Food Chemistry*, 85(2), 231–237.
15. Peñas E., Martínez-Villaluenga C., Pihlava J. M., Frias J. (2015). Evaluation of refrigerated storage in nitrogen-enriched atmospheres on the microbial quality, content of bioactive compounds and antioxidant activity of sauerkrauts. *LWT - Food Science and Technology*, 61(2), 463–470.
16. Pérez-Díaz I. M., Breidt F., Buescher R. W., Arroyo-López F. N., Jiménez-Díaz R., Garrido Fernández A., Bautista Gallego J., Yoon S. S., Johanningsmeier S. D. (2013). *Compendium of Methods for the*

- Microbiological Examination of Foods. Chapter 51: Fermented and Acidified Vegetables. American Public Health Association.
17. PN-90/A-75101/04. Przygotowanie próbek i metody badań fizykochemicznych. Oznaczenie kwasowości ogólnej.
 18. PN-EN 12136:2000. Oznaczenie całkowitej zawartości karotenoidów oraz ich poszczególnych frakcji.
 19. Re R., Pellegrini N., Proteggente A., Pannal A., Yang M., Rice-Evans C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*, 26(9–10), 1231–1237.
 20. Swain T., Hillis W. E. (1959). The phenolic constituents of *Prunus domestica*. I.—The quantitative analysis of phenolic constituents. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 10(1), 63–68.
 21. Śmiechowska M., Witt P., 2017. The assessment of the sensory quality of the sauerkraut from organic and conventional farming. *Journal of Research and Applications in Agricultural Engineering*, 62(4), 168-172.
 22. US Department of Agriculture, Agricultural Research Service N. D. L. (2017). USDA Branded Food Products Database. Retrieved July 30, 2017, from <http://ndb.nal.usda.gov>
 23. Wiczowski W., Szawara-Nowak D., Topolska J. (2015). Changes in the content and composition of anthocyanins in red cabbage and its antioxidant capacity during fermentation, storage and stewing. *Food Chemistry*, 167, 115–123.
 24. Yeo S. K., Ewe J. A. (2015). Effect of fermentation on the phytochemical contents and antioxidant properties of plant foods. *Advances in Fermented Foods and Beverages*. Elsevier Ltd.

BOGUMIŁA URBAŃSKA¹, DOROTA MIARKA¹, JOLANTA KOWALSKA¹

¹*Katedra Biotechnologii, Mikrobiologii i Oceny Żywności, Wydział Nauk o Żywności,
Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie*

CHARAKTERYSTYKA CZYNNIKÓW ORAZ WPŁYW WYBRANYCH AKTYWATORÓW NA DYNAMIKĘ FERMENTACJI WYSOKOCUKROWYCH NASTAWÓW WINIARSKICH

Wstęp

Wino to produkt uzyskiwany w procesie winifikacji [Pieszko i Ogrodowczych, 2010]. Otrzymywane jest w wyniku fermentacji alkoholowej, jednego z najstarszych procesów biotechnologicznych wykorzystywanych przez człowieka. W procesie tym dochodzi do przemiany fruktozy (cukru zawartego w dojrzałych owocach winogron) pod wpływem enzymów wytwarzanych przez drożdże w odpowiedniej temperaturze [Baslingappa i in., 2014]. W efekcie powstaje alkohol etylowy i dwutlenek węgla. Produkt uboczny w postaci dwutlenku węgla jest wykorzystywany do produkcji win musujących. Wśród wielu problemów spotykanych w winiarstwie jednym z najbardziej istotnych wydaje się wysokie i szybkie odfermentowanie nastawów, co łączy się z ekonomiką procesu oraz jakością gotowego wyrobu.

Produkcja wysokocukrowych nastawów winiarskich, w tym m.in. miodów pitnych oraz moszczy owocowych i gronowych dosładzanych sacharozą, jest procesem bardzo skomplikowanym ze względu na panujące w brzeczce fermentacyjnej wysokie ciśnienie osmotyczne [Sroka i in., 2014]. Dlatego też w wyniku fermentacji często nie uzyskuje się odpowiednio dużej zawartości alkoholu, która jest zalecana w normach. Prowadzi to do sytuacji, gdzie producenci zmuszeni są do dodatkowej alkoholizacji gotowego wyrobu. Należy pamiętać, że alkohol uzyskany w drodze naturalnej fermentacji jest wielokrotnie tańszy niż dodany w formie spirytusu rektyfikowanego.

Celem niniejszej pracy jest charakterystyka czynników oraz przegląd wpływu wybranych dodatków na dynamikę fermentacji wysokocukrowych nastawów winiarskich.

Czynniki wpływające na przebieg fermentacji i skład wina

Podczas fermentacji moszczy o wysokiej zawartości cukrów obserwuje się trudności w prowadzeniu tego procesu, w związku z narastającym stężeniem alkoholu oraz zbyt niskiej lub wysokiej temperatury fermentacji. Wśród metabolitów fermentacji funkcję inhibitorów procesu odgrywają również kwasy tłuszczowe (kapronowy i kaprylowy) oraz ich estry [Bonin i Ślusarska, 2007; Ugliano i Henschke, 2009].

Głównym składnikiem wina jest woda (ok. 90%), a pozostałymi są: etanol (9-18%), cukry (0-16%), składniki mineralne, fenole, substancje białkowe, barwnikowe,

aromatyczne, garbniki, gliceryna oraz witamina C i witaminy z grupy B [Moreno-Arribas i Polo, 2009].

Kompozycja składników chemicznych może nadawać winom indywidualne cechy smakowo-zapachowe kształtowane przez związki pochodzące z surowca, powstałe podczas fermentacji oraz leżakowania. Na skład jakościowy i ilościowy substancji aromatyczno smakowych wpływają również: rasa drożdży, warunki fermentacji, dostępność tlenu, a także dodatek innych substancji np. SO₂ [Wzorek i Pogorzelski, 1998; Jackson, 2008]. Na bukiet wina wpływają w dużej mierze estry oraz substancje aromatyczne, np. terpenoidy. W mniejszym stopniu wpływ mają tłuszcze, aldehydy, witaminy i CO₂ [Moreno-Arribas i Polo, 2009]. Szybkość fermentacji zależy od wielu czynników, które mogą istotnie wpłynąć na niecałkowite odfermentowanie cukrów przez drożdże, takich jak np.: temperatura, niedobór składników odżywczych, nadmierne klarowanie, toksyczne właściwości etanolu i innych substancji chemicznych [Moreno-Arribas i Polo, 2009]. Wymienione czynniki mogą oddziaływać synergistycznie i w określonych warunkach wywołują znacznie większy efekt hamujący niż każdy z osobna. Odpowiednie dobranie materiału biologicznego, prawidłowa rehydratacja i adaptacja drożdży, podobnie jak zachowanie stałych optymalnych warunków fermentacji, minimalizują prawdopodobieństwo zahamowania lub zatrzymania procesu [Sroka i Błaszczak, 2010]

Drożdże

W zależności od przewidywanego rodzaju wina, do fermentacji używa się różnych ras drożdży, które zostały wyizolowane z naturalnej mikroflory bytującej na owocach. W przemyśle winiarskim stosuje się głównie drożdże z gatunków *Sacharomyces cerevisiae* oraz *Sacharomyces bayanus* [Orlic i in., 2009].

Sacharomyces cerevisiae to mikroorganizmy modelowe, których genom został w pełni zbadany i przyznano mu przez międzynarodowe środowisko naukowe status GRAS (General Recognized As Safe – ogólnie uważany za bezpieczny) [Pretorius i in., 2003]. Przy znacznym stężeniu cukrów w nastawie winiarskim mikroorganizmy te bardzo szybko opanowują środowisko moszczu i po 2-4 dniach fermentacji stają się dominującą mikroflorą [Comitini i in., 2011]. Do jego zalet należy odporność na wysoką kwasowość i obecność alkoholu oraz dwutlenku siarki [Konig i in., 2009].

Kolejny gatunek drożdży znajdujący duże zastosowanie w winiarstwie to szczep *Sacharomyces bayanus*, który asymiluje i fermentuje glukozę, sacharozę, fruktozę oraz maltozę, ale nie fermentuje laktozy i galaktozy [Majdak i in., 2002]. Posiada również zdolność do fermentacji w niskich temperaturach (ale nie mniej niż 6°C), a produkt końcowy - wino, cechuje się klarownością i głęboką barwą. W stosunku do *S. cerevisiae* syntetyzują większe ilości glicerolu, kwasu mlekowego i bursztynowego, a podobną ilość

kwasu octowego [Muratore i in., 2007]. Pomimo, że wiele szczepów z rodzaju *Sacharomyces* wykazuje bardzo duże podobieństwo pod względem genetycznym, może się różnić właściwościami enologicznymi oraz zdolnością do syntezy poszczególnych związków lotnych [Konig i in., 2009].

Współczesne winiarstwo opiera się przeważnie na monokulturach, jednak w wielu rejonach świata nadal kultywuje się tradycje metody produkcji napojów alkoholowych przy użyciu mikroflory autochtonicznej. Użycie monokultur drożdży jest uzasadnione z punktu widzenia technologicznego, ponieważ umożliwia kontrolę procesu, zmniejsza ryzyko zakażenia, a uzyskany produkt charakteryzuje się jednolitym składem [Toro i Vazquez, 2002].

Tolerancja drożdży na etanol

Hamujące działanie wysokiego stężenia etanolu jest 4,5 razy silniejsze niż wysokiego stężenia cukrów, dlatego prowadzonych jest szereg badań dotyczących toksycznego działania etanolu. Jedną z podstawowych trudności w oszacowaniu tolerancji różnych drożdży na etanol jest brak uniwersalnej metody pomiarowej.

Etanol jest znanym inhibitorem wzrostu, prowadzącym do uszkodzeń mitochondrialnego DNA, inaktywacji niektórych enzymów oraz zaburzeń składu lipidowego błony komórkowej. Dane literaturowe wskazują, że tolerancji na podwyższone stężenie etanolu towarzyszy wzrost stosunku ergosterolu do fosfolipidów oraz zwiększenie ilości nienasyconych kwasów tłuszczowych [Piecuch i Obłąk, 2013].

Etanol wywołuje trzy główne zmiany w drożdżach, a mianowicie: inhibuje ich wzrost, zdolność życiową i fermentacyjną. Dlatego zdefiniowanie tolerancji na alkohol będzie zależało od tego, do którego parametru będzie się odnosiła. Złożona natura toksyczności alkoholu na drożdże sugeruje, że za odporność na etanol i mechanizm jego tolerancji prawdopodobnie odpowiedzialnych jest wiele różnych genów. Według Chen i Xu [2014] toksyczne działanie etanolu polega na destrukcji błony plazmatycznej przez wymywanie frakcji lipidowej podczas sekrecji etanolu na zewnątrz komórki. Wywołuje to zakłócenia w strukturze molekularnej oraz w przepuszczalności błon i w efekcie może prowadzić do śmierci komórki. Wraz ze wzrostem długości łańcuchów kwasów nienasyconych oraz zawartości steroli w błonie plazmatycznej wzrasta odporność komórek drożdżowych na etanol.

Zawartość cukrów w nastawach winiarskich

Proces fermentacji wysokocukrowych nastawów winiarskich utrudnia zarówno ciśnienie osmotyczne moszczu, jak również wzrastające stężenie alkoholu. Ponadto inhibicję fermentacji alkoholowej powodują produkty uboczne (m.in. kwas octowy, estry etylowe), które są wytwarzane przez drożdże i mogą działać synergicznie z etanolem

[Moreno-Arribas i Polo, 2009]. Dodatek cukru w przypadku win owocowych umożliwia uzyskanie odpowiedniej zawartości alkoholu, a także zapewnia zwiększoną trwałość gotowego produktu. Każdy dodatek cukru w nastawie powoduje wzrost ciśnienia osmotycznego, w wyniku czego może następować obumieranie komórek na skutek plazmolizy. W celu utrzymania żywotności komórek należy obniżyć ciśnienie osmotyczne roztworu. Obniżenie tego ciśnienia można dokonać przez zmianę sposobu i warunków odżywiania podczas fermentacji [Ugliano i Henschke, 2009; Comuzzo i Zironi, 2013].

Kwasowość

Moszcz przeznaczony do fermentacji powinien wykazywać pH w przedziale 3,2 do 3,7. W pH poniżej 3,0 drożdże zwykle słabiej fermentują, a w pH powyżej 3,7 ułatwiony jest rozwój niepożądanego mikroflory [Pijanowski i Wasilewski, 1955; Kodur, 2011]. Obniżanie kwasowości moszczu osiąga się zwykle w drodze kupażowania z moszczami mało kwaśnymi lub rozcieńczania wodą, ale zbyt duży dodatek wody daje w rezultacie wina o „pustym” smaku.

Wzrost drożdży jest wydajniejszy, gdy pH podłoża jest kwaśne. Nawet najmniejszy wzrost pH środowiska stanowi dla komórek drożdży stres. [Piecuch i Obłak, 2013].

Temperatura

Według Pijanowskiego i Wasilewskiego [1955] optimum temperatury dla działalności fermentacyjnej drożdży winiarskich mieści się w granicach 22-24°C. Jednocześnie temperatura fermentującego moszczu nie powinna przekroczyć 28-30°C [Grainger i Tattersol, 2005]. Za maksymalną uznaje się temperaturę 30°C, ponieważ powyżej tej granicy zaobserwowano zjawisko obumierania drożdży już przy zawartości alkoholu około 11% obj.. Niemniej im wyższa temperatura tym więcej nieprzefermentowanego cukru pozostaje w roztworze i jednocześnie uzyskuje się mniej alkoholu w gotowym winie. Do ujemnych stron fermentacji w tych warunkach zalicza się utratę cennych składników aromatu oraz alkoholu, w wyniku zwiększonego parowania tych składników przez gwałtownie wydzielający się dwutlenek węgla.

Dwutlenek siarki

Dwutlenek siarki podczas fermentacji zapobiega rozwojowi drożdży „dzikich” oraz bakterii [Ugliano i Henschke, 2009]. Siarkowanie nastawu w odpowiedniej ilości stanowi wygodny środek do regulacji czystości przebiegu fermentacji bez potrzeby stosowania pasteryzacji moszczu, który przez silniejsze ogrzewanie nabiera często niekorzystnych cech smakowych. Zabieg ten może również prowadzić do skleikowania skrobi [Danielewicz, 2007].

Rozporządzenie (WE) 607/2009 precyzuje, że wina muszą być oznaczone symbolem "zawiera siarczyny", jeżeli całkowity SO₂ jest wyższy niż 10 mg/l. W najnowszych badaniach, istotne staje się ograniczenie, a nawet wyeliminowanie stosowania dwutlenku siarki w winach [Comuzzo i Zironi, 2013; Andorra i in., 2018].

Rola tlenu

Proces namnażania drożdży wymaga znacznej ilości tlenu, dlatego też w przypadku opóźnienia objawów zafermentowania stosuje się przewietrzanie moszczu przez przepompowywanie lub wdmuchiwanie czystego powietrza. Napowietrzanie przy namnażaniu drożdży prowadzi do pozytywnych dla fermentacji zmian w składzie błon komórkowych oraz do wielokrotnego zwiększenia liczby komórek. Wzrost ten zależy od sposobu i czasu trwania napowietrzania [Toit i in., 2006; Moreno-Arribas i Polo, 2009].

Rola aktywatorów w procesie fermentacji

Podczas fermentacji moszczy o wysokiej zawartości cukru często obserwuje się trudności w zafermentowaniu lub dofermentowaniu nastawu.

Prowadzonych jest wiele prac dotyczących aktywowania fermentacji przez przeciwdziałanie wpływowi czynników hamujących prawidłowy wzrost i aktywność fermentacyjną drożdży [Marks i in., 2008]. Podczas doboru odpowiednich aktywatorów fermentacji bierze się pod uwagę: nieszkodliwość dla zdrowia, skuteczność działania szczególnie w niewielkich dawkach oraz korzystny wpływ na proces fermentacji. Fermentację nastawów wysokocukrowych można poprawić stosując dodatek aktywatorów fermentacji. Zalicza się do nich m.in. sok z jarzębiny, śrutę z nasion wiesiołka, bentonit, pantotenian wapnia, celulozę, suszoną grzybnię *Botrytis cinerea*, *Aspergillus niger* i preparaty ścian komórek drożdży [Wzorek i Pogorzelski, 1998]. Korzystnie na proces fermentacji alkoholowej oraz przyrost biomasy mogą oddziaływać również pierwiastki, do których zalicza się m.in. magnez i wapń. Według Pereira i in. [2009] brzeczki mogą być wzbogacane w związki azotowe, fosforowe i inne substancje mineralne. Jony magnezu pełnią bardzo ważną rolę w fizjologii komórek drożdżowych i są niezbędne do funkcjonowania wielu enzymów związanych m.in. z glikolizą i syntezą kwasów tłuszczowych. Jony te z fosfolipidami tworzą związki kompleksowe budujące struktury błon komórkowych. Przyczyniają się one do zwiększania płynności i przepuszczalności błon cytoplazmatycznych. Działają także ochronnie na DNA co wspomaga utrzymanie prawidłowej struktury. Jony magnezu są ważne w mechanizmach adaptacyjnych i ochronnych komórek drożdży w warunkach wysokiej temperatury, stresu etanolowego i ciśnienia osmotycznego [Bonin i Ślusarska, 2007].

Jony magnezu inicjują syntezę białek szoku termicznego, co zwiększa przeżywalność oraz przyspiesza wzrost komórek. Dodatek tych jonów do nastawów winiarskich

powoduje uzyskanie lepszego odfermentowania oraz zwiększoną syntezę etanolu [Sroka i in., 2005]. Wykazano, że minimalne zapotrzebowanie komórek drożdży na magnez wynosi 0,65-1,7 mM [Bonin i Ślusarska, 2007].

Guma arabska (GA) to popularny dodatek do wina [Sprenger i in., 2014]. Jest to naturalna wydzielina uzyskana z drzew *Acacia senegal* i *Acacia seyal*. Pozytywnymi efektami jej stosowania powinna być lepsza stabilność koloidalna, wzmocnienie działania kwasu metawinowego, zapobieganie tworzeniu się zmętnienia w niskich temperaturach lub zapobieganie strącaniu pigmentów w młodych winach czerwonych.

Immobilizacja komórek drożdży umożliwia ich ochronę przed niekorzystnymi warunkami środowiskowymi takimi jak: wysokie stężenie etanolu, kwasów organicznych lub ciśnienie osmotyczne. Immobilizacja zapobiega jednocześnie powstawaniu roztworów przesyconych dwutlenkiem węgla, gdyż podobnie do naturalnych zawiesin stanowią one aktywne centra wydzielania dwutlenku węgla [Sroka i Błaszczuk, 2010]. W winiarstwie często stosowane są drożdże unieruchamiane na powierzchni lub wewnątrz nośnika. Komórki wykazujące naturalną zdolność do przylegania do niektórych powierzchni są immobilizowane na powierzchni matrycy. Stosowane w tym przypadku nośniki to np. skały wulkaniczne (kissiris), pochodne celulozy, gluten, szkło porowate oraz owoce. Owoce, np. pigwy lub jabłoni są tanim nośnikiem, a ponadto unieruchamianie drożdży przy ich pomocy daje produkt o wzmocnionych cechach sensorycznych [Kourkoutas i in., 2003]. W przypadku drożdży kluczową rolę w takiej immobilizacji pełnią oddziaływania jonowe. Immobilizacja wewnątrz nośnika polega na zamykaniu komórek we włóknistych lub porowatych kuleczkach żelu lub wewnątrz membran półprzepuszczalnych [Kourkoutas i in., 2004]. Często stosowanymi nośnikami są: alginiany, chitozan, karagenian, agar i pektyna.

W badaniach Sroki i in. [2014] dodatek gumy arabskiej zwiększył stężenie etanolu oraz stopień odfermentowania brzeczek miodowych. Powodował również wytrącenie koloidów, które występowały w brzeczce i skracał czas klarowania młodych miodów pitnych. Suplementacja nastawów za pomocą jonów magnezu wpływała na zmianę struktury matrycy hydrożelowej, która unieruchamiała komórki drożdży, co przyczyniało się do ułatwienia transportu substratów.

Wnioski

Uzyskiwanie win o wysokim stężeniu alkoholu wymaga zastosowania nastawów wysokocukrowych. Jednak w takim środowisku fermentacja jest utrudniona, początkowo ze względu na niekorzystne wysokie ciśnienie osmotyczne, a w dalszym etapie procesu ze względu na duże stężenie powstałego alkoholu. Przyczyną zakłóceń procesu fermentacji mogą być także metabolity fermentacji, jakimi są kwasy tłuszczowe o krótkim odgałęzieniu bocznym i ich estry. Fermentację nastawów wysokocukrowych

można poprawić poprzez dodatek aktywatorów fermentacji takich jak związki azotowe, fosforowe, jony magnezu czy gumę arabską, stosując przy tym dobrane szczepy drożdży winiarskich oraz zapewniając odpowiednie warunki procesu.

Literatura

1. Andorrà I., Martín L., Nart E., Puxeu M., Hidalgo C., Ferrer-Gallego R. (2018). Effect of grape juice composition and nutrient supplementation on the production of sulfur dioxide and carboxylic compounds by *Saccharomyces cerevisiae*. *Australian Journal of Grape and Wine Research* 24, 260-266.
2. Baslingappa S.S., Thakor N.J., Divate A.D. (2014). Fruit Wine Production: A Review. *Journal of Food Research and Technology*, 2(3), 93-100 .
3. Bonin S., Ślusarska M. (2007). Wpływ dodatku soli magnezu i wapnia do wysokocukrowych nastawów na proces fermentacji winiarskiej i przyrost biomasy drożdży. *Żywność Nauka Technologia Jakość*, 53, 109-119.
4. Chen S., Xu Y. (2014). Adaptive Evolution of *Saccharomyces cerevisiae* with Enhanced Ethanol Tolerance for Chinese Rice Wine Fermentation. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 173, 1940-1954.
5. Comitini F., Gobbi M., Domizio P., Romani C., Lencioni L., Mannazzu I., Ciani M. (2011). Selected non-Saccharomyces wine yeasts in controlled multistarter fermentations with *Saccharomyces cerevisiae*. *Food Microbiology*, 28, 873-882.
6. Comuzzo P., Zironi R. (2013). Biotechnological Strategies for Controlling Wine Oxidation. *Food Engineering Reviews*, 5, 217-229.
7. Danielewicz J.C. (2007). Interaction of Sulfur Dioxide, Polyphenols, and Oxygen in a Wine-Model System: Central Role of Iron and Copper. *American Journal of Enology and Viticulture*, 58(1), 53-60.8. Grainger K., Tattersall H., (2007) *Wine Production: Vine To Bottle* (pp. 1–130). Blackwell Publishing.
8. Jackson R.S. (2008). *Wine Science Principles and Applications*. Third Edition. Academic Press is an imprint of Elsevier.
9. Kodur S. (2011). Effects of juice pH and potassium on juice and wine quality, and regulation of potassium in grapevines through rootstocks. *Journal of Grapevine Research*, 50(1), 1–6.
10. König H., Uden G., Frohlich J. (2009). *Biology of microorganisms on grapes, in must and in wine*. Springer, Berlin - Heidelberg.
11. Kourkoutas Y., Komaitis M., Koutinas A.A., Kaliafas A., Kanellaki M., Marchant R., Banat I.M. (2003). Wine production using yeast immobilized on quince biocatalyst at temperatures between 30 and 0°C. *Food Chemistry*, 82, 353-360.
12. Kourkoutas Y., Bekatorou A., Banat I.M., Marchant R., Koutinas A.A. (2004) Immobilization technologies and support materials suitable in alcohol beverages production: a review. *Food Microbiology*, 21, 377-397.
13. Majdak A., Harjavec S., Orlic S., Redzepovic S., Mirosevic N. (2002). Comparison of wine aroma compounds produced by *Sacharomyces paradoxus* and *Sacharomyces cerevisiae* strains. *Food Technology and Biotechnology*, 40(2), 103-109.
14. Marks V.D., Ho Sui S.J., Erasmus D., Van Der Merwe G.K., Brumm J., Wasserman W.W., Bryan J., Van Vuuren H.J.J. (2008). Dynamics of the yeast transcriptome during wine fermentation reveals a novel fermentation stress response. *FEMS Yeast Research*, 8 (1), 35-52.
15. Moreno-Arribas M.V., Polo M.C. (2009). *Wine Chemistry and Biochemistry*. Springer New York. (pp. 1–735).
16. Muratore G., Asmundo C.N., Lanza C.M., Caggia C., Licciardello F., Restuccia C. (2007). Influence of *Saccharomyces uvarum* on volatile acidity, aromatic and sensory profile of Malvasia delle Lipari wine. *Food Technology and Biotechnology*, 45, 101–106.
17. Pereira A.P., Dias T., Andrade J., Ramalhosa E., Estevinho L.M. (2009). Mead production: Selection and characterization assays of *Saccharomyces cerevisiae* strains. *Food and Chemical Toxicology*, 47, 2057-2063.
18. Pieszko C., Ogrodowczych E. (2010). Zawartość garbników i polifenoli w winach. *Bromatologia i Chemia Toksykologiczna XLIII* 4, 509-514.

19. Piecuch A. , Obłąk E., (2013). Mechanizmy oporności drożdży na stres środowiskowy. *Postępy Higieny i Medycyny Doświadczalnej* ,67, 238-254.
20. Pijanowski E., Wasilewski Z. (1955). *Zarys Technologii Winiarstwa*. Wydawnictwo Przemysłu Lekkiego i Spożywczego, Wydanie drugie, 1-256.
21. Pretorius I.S., Toit M., Rensburg P. (2003). Designer yeast for the fermentation industry of the 21st century. *Food Technology and Biotechnology*, 41(1), 3-10.
22. Sprenger S., Meylahn K., Zaar A., Dietrich H., Will E. (2014). Identification of gum Arabic in white wine based on colloid content, colloid composition and multi-element stable isotope analysis. *European Food Research and Technology*, 240, 909–921.
23. Sroka P., Tuszyński T., Tarko T. (2005). Wpływ jonów wapnia i magnezu na fermentację brzeczek miodowych. *Mat. XXXVI Sesji Nauk. KTChŻPAN, Szczecin*, 100
24. Sroka P., Błaszczuk U. (2010). Inhibitory fermentacji etanolowej w winiarstwie. *Przemysł Fermentacyjny i Owowcowo-Warzywny*, 26, 23-25.
25. Sroka P., Satora P., Tarko T., Duda-Chodak A., Telec P. (2014). Wpływ dodatku gumy arabskiej na przebieg fermentacji brzeczek miodowych o różnej zawartości jonów magnezu. *Technologia produkcji i bezpieczeństwo żywności*. Wydawca: Oddział Małopolski Polskiego Towarzystwa Technologów Żywności, Materiały konferencyjne pod redakcją: Tarko T., Duda-Chodak A., Witczak M., Najgebauer-Lejko D., 54-76.
26. Toit W.J., Marais J., Pretorius I.S., Toit M. (2006). Oxygen in Must and Wine: A review. *South African Journal of Enology & Viticulture*, 27, 76-94.
27. Toro M.E., Vazquez F. (2002). Fermentation behaviour of controlled mixed and sequential cultures of *Candida cantarellii* and *Sacharomyces cerevisiae* wine yeasts. *World Journal of Microbiology & Biotechnology*, 18, 347-354.
28. Orlic S., F.N. Arroyo-Lópe F.N., Lucilla I., Querol A., Barrio E. (2009). A comparative study of the wine fermentation performance of *Saccharomyces paradoxus* under different nitrogen concentrations and glucose/fructose ratios. *Journal of Applied Microbiology*, 108(1), 73-80.
29. Ugliano M., Henschke P.A. (2009). *Yeasts and Wine Flavour*. In: Moreno-Arribas M.V., Polo M.C. (eds) *Wine Chemistry and Biochemistry*. Springer, New York, NY
30. Wzorek W., Pogorzelski E. (1998). *Technologia winiarstwa owocowego i gronowego*. Wkładka do miesięcznika PRiOW. Sigma-NOT, Warszawa.

KAROLINA KIJOWSKA¹, GRZEGORZ KOWALSKI¹,
TERESA WITCZAK¹, MARCELINA NOWAK¹

¹*Katedra Inżynierii i Aparatury Przemysłu Spożywczego, Wydział Technologii Żywności,
Uniwersytet Rolniczy im. Hugona Kołłątaja w Krakowie*

WŁAŚCIWOŚCI HYDROŻELI NA BAZIE WYSOKOMETYLOWANYCH PEKTYN

Wprowadzenie

Na przestrzeni minionych kilku lat naukowcy w dziedzinach nauk polimerowych przeprowadzali liczne badania oparte na tworzeniu nowych materiałów hydrożelowych. Zapotrzebowanie rynku na tego rodzaju materiały oraz obecne trendy nakreślają kierunek rozwoju nauki w zakresie materiałów polimerowych, jakim są hybrydowe materiały hydrożelowe, które ulegają biodegradacji [Floriańczyk i in., 2009].

Hydrożele stanowią grupę związków o trójwymiarowej strukturze utworzonej przez sieć polimerową, które charakteryzują się zdolnością do chłonięcia znacznych ilości wody. Materiały te nazywane są również superabsorbentami, ponieważ są w stanie zaabsorbować wodę lub jej roztwory w ilości nawet tysiąckrotnie przewyższającą masę kserożelu (niespęczniały hydrożel) [Thavasyappan i in., 2017]. Jednym z kryteriów podziału materiałów hydrożelowych jest przynależność substratu (polimeru) do związków o charakterze syntetycznym lub naturalnym. Polimery charakteryzują się wysokim stopniem przetwarzalności, powtarzalną i trwałą strukturą. Materiały wytworzone na bazie syntetycznych polimerów charakteryzują się długim procesem degradacji. Natomiast biopolimery charakteryzujące się często bardzo złożoną strukturą i wykazujące wrażliwość na warunki środowiskowe stanowią materiały o doskonałej biokompatybilności, ale charakteryzują się niską wytrzymałością mechaniczną, mniejszą powtarzalnością niż w przypadku polimerów syntetycznych oraz wysoką podatnością na degradację [Rezvianian i in., 2017].

Obecnie wiele prac naukowych z zakresu hydrożeli poświęconych jest tworzeniu materiałów hydrożelowych na bazie polimeru syntetycznego z biokompozytem, np. hydrokoloidem. Połączenie cech materiałów syntetycznych z biodegradowalnym charakterem biopolimerów pozwala na stworzenie hybrydowych materiałów o bardzo użytecznych właściwościach [Cui i in., 2017].

Pektyna należy do grupy heterogenicznych polisacharydów o niejednorodnej budowie. Jednostkami tworzącymi szkielet łańcucha tego biopolimeru są reszty kwasu α -D-galakturonowego połączone wiązaniami 1,4-O-glikozydowymi. Cząsteczki pektyny mają budowę rozgałęzioną. Łańcuchy polimerowe zawierają frakcje o znacznych ilościach różnych monosacharydów tj. L-ramnozy, D-arabinozy, D-galaktozy. Pektyny są pozyskiwane głównie ze ścian komórkowych roślin wyższych, gdzie pełnią funkcje

strukturotwórcze. Głównym przemysłowym źródłem pektyny są wyłoki jabłkowe oraz skórki z owoców cytrusowych z uwagi na wysoka zawartość pektyny. Warto zauważyć, że wymienione źródła stanowią odpad przemysłu spożywczego [Noreen i in., 2017].

Pektyna charakteryzuje się bardzo złożoną budową i dużą zmiennością struktury w zależności od pochodzenia botanicznego. Jednak wiele prac naukowych opisuje modelowo strukturę pektyny. Wyróżnia się kilka frakcji pektyny wynikających z różnic w budowie i wielkości cząsteczek, a także stopniu metylacji i acetylacji. Frakcja homogalakuronanu stanowi największy udział w cząsteczce biopolimeru. Może stanowić nawet 65% cząsteczki pektyny [Ridley i in., 2001]. Frakcja ta ma charakter homopolimerowy, jest zbudowana z maksymalnie 200 jednostek reszt kwasu α -D-galakuronowego połączonych wiązaniami 1,4-O-glikozydowymi [Wikiera i Mika, 2012]. Ważnym elementem budowy wpływającym na właściwości biopolimeru jest obecność grupy karboksylowej przy szóstym atomie węgla w cząsteczce meru, mogącej ulegać estryfikacji metanolem. Grupy metylowe powodują zmianę gęstości ładunku cząsteczki. Kolejną frakcję pektyny stanowi ramnogalakuronan I. Jest zbudowany z α -D-galakuronopiranozylo-(1,2)- α -L-ramnopiranozy czyli z reszty kwasu D-galakuronowego i L-ramnozy połączonych wiązaniami 1,4-O-glikozydowymi. Jest to frakcja rozgałęziona z przyłączonymi jednostkami oligosacharydów (np. reszty i pochodne L-arabinozy, D-galaktozy). Miejscami przyłączania oligosacharydów są reszty ramnozy przy węglu C4. Tak jak w homogalakuronanie tak i w tej frakcji jednostki kwasu D-galakuronowego mogą ulegać metylacji i acetylacji. Natomiast rozgałęzienia w frakcji ramnogalakuronanu II, są umiejscowione przy drugim i trzecim atomie węgla. Kolejną frakcję stanowi ksylogalakuronan o takim samym, jak w homogalakuronanie, szkielecie łańcucha głównego z podstawieniami przy węglu C3 w postaci β -D-ksylozy lub ksylooligomery. Frakcja arabinanu jest zbudowana z reszt α -L-arabinofuranozy połączonych wiązaniami 1-5-glikozydowymi, a frakcja arabinogalaktanów z reszt β -D-galaktopiranozy. W tej frakcji mogą występować wiązania α -1,4-glikozydowe lub α -1,3-glikozydowe [Waszkiewicz-Robak, 2005; Jung i in., 2013; Pinkowska i Złocińska, 2014; Lopez i in., 2017].

Jak już wspomniano reszty kwasu galakturonowego zawierają w swojej cząsteczce grupę karboksylową, która może być poddawana modyfikacją, tj. estryfikacji czy acetylacji. Ze względu na stosunek ilościowy zmetylowanych grup karboksylowych określa się stopień metylacji - DE, który stanowi kryterium podziału na pektyny wysokoestryfikowane i niskoestryfikowane. Podstawową właściwością pektyny, dzięki której znalazła zastosowanie w przetwórstwie żywności jest zdolność do tworzenia żeli. Mechanizm żelowania pektyny wysokometylowanej jest zupełnie inny niż w przypadku pektyny niskometylowanej. Proces tworzenia żelu przez pektyny polega na przejściu układu koloidalnego w żel poprzez wytworzenie trójwymiarowej sieci stabilizowanej

wiązaniem wodorowymi. Pektyna, której DE wynosi powyżej 50% jest zaliczana do formy wysokometylowanej, która do wytworzenia struktury żelowej potrzebuje środowiska kwaśnego (o pH od 2 do 3,5) oraz dużego udziału cukru (ok. 50%). W przypadku pektyny niskometylowanej do wytworzenia sieci żelowej niezbędna jest obecność jonów dwuwartościowych, natomiast wartość graniczna pH wynosi 6,5. Pomiedzy grupami karboksylowymi, a kationami wapnia dochodzi do powstania mostków, czyli wiązań jonowych, dzięki którym tworzy się struktura typu „eggs-box”. W pierwszym etapie dochodzi do dimeryzacji dwóch makrocząsteczek, a następnie do ich agregacji [Chan i in., 2017].

Cel pracy

Celem niniejszej pracy było zbadanie właściwości hydrożeli na bazie kwasu akrylowego i pektyny. Ważny element pracy stanowiła ocena wpływu dodatku środka sieciującego i pektyny w syntetyzowanych hydrożelach na ilość nieprzereagowanego kwasu akrylowego, a także ocena wpływu wartości pH na wodochłonność uzyskanych hydrożeli. Próbkę hydrożeli spęczniano w buforach cytrynianowo – fosforanowych, w zakresie wartości pH od 2,2 do 8,0.

Materiały i metody

Materiały użyte do syntezy hydrożeli

Pektyna wysokometylowana firmy Pektowin (DE=67%) oraz kwas akrylowy (>99%, Sigma Aldrich), środek sieciujący – NN-metyleno-bisakryloamid (>98% Fluka), nadsiarżan potasu (cz.d.a Chempur), wodorotlenek sodu (cz.d.a. Chempur). Wszystkie odczynniki użyto w takiej formie jak zostały dostarczone, bez wstępnego oczyszczania.

Metodyka wykonania

Materiał badawczy, w postaci dwóch serii próbek superabsorbentu na bazie monomeru kwasu akrylowego i pektyny, uzyskano na drodze polimeryzacji rodnikowej. Jedna seria próbek (P1_1 – P1_6) została zróżnicowana ze względu na ilość środka sieciującego – N,N'-metylenobisakryloamidu, natomiast druga seria zawierała różną ilość pektyny. Tabele 1 i 2 przedstawiają masowy udział poszczególnych składników do syntezy hydrożeli.

Przebieg syntezy hydrożeli

Roztwory pektyny o określonym stężeniu podgrzano do temperatury 80°C w łaźni wodnej, jednocześnie mieszając roztwory przy użyciu mieszadła magnetycznego z szybkością 500 obrotów na minutę. Następnie dodano uprzednio przygotowany roztwór kwasu akrylowego neutralizowanego wodorotlenkiem sodu oraz określoną dla danej

próbki ilość środka sieciującego N,N'-metylenobisakryloamidu. Za początek reakcji polimeryzacji przyjęto moment dodania inicjatora reakcji – nadsiarczanu potasu. Syntezę prowadzono przez 60 minut. Reakcja przeprowadzana była w atmosferze azotu, w celu zminimalizowania ryzyka wystąpienia potencjalnych reakcji ubocznych. Powstałe żełe zostały oczyszczone metanolem, a następnie suszone w temperaturze 60°C przez 48h. Na koniec próbki zostały rozdrobnione w młynku analitycznym oraz rozfrakcjonowane ze względu na wielkość ziaren polimeru. Do badań wykorzystano próbki hydrożeli o frakcji 0,12-0,25 mm.

Tabela 1. Ilościowy udział składników użytych do syntezy próbek hydrożelu o zróżnicowanej zawartości środka sieciującego – N,N'-metylenobisakryloamidu

Nazwa próbki	MBA[g]	Kwas akrylowy [g]	Pektyna [g]	K ₂ S ₂ O ₈ [g]	NaOH [g]	H ₂ O [g]	$\frac{m_{MBA}^*}{m_{AA}}$ [g/g]
P1_1	0,0048	30	5	0,121	5,008	130,46	0,00016
P1_2	0,00976						0,000325
P1_3=P1_3E	0,0188						0,000627
P1_4	0,0293						0,000976
P1_5	0,0504						0,00168
P1_6	0,0804						0,00268

*Stosunek masy środka sieciującego N,N'-metylenobisakryloamidu (m_{MBA}) do masy kwasu akrylowego (m_{AA})

Spektroskopia UV-VIS

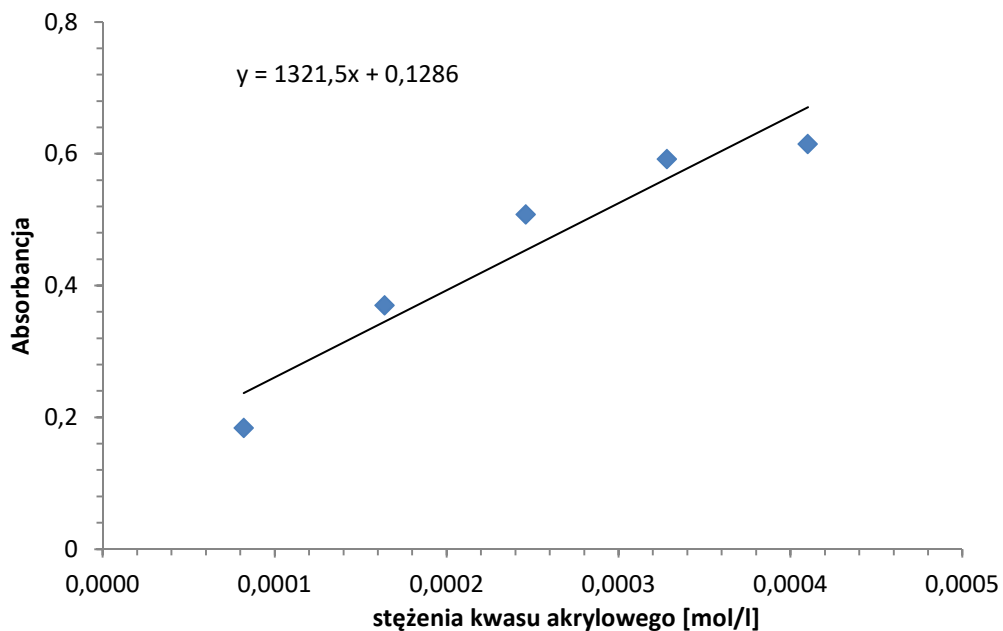
Próbki hydrożeli poddano analizie spektrofotometrycznej w zakresie promieniowania UV-VIS, w celu oszacowania ilości nieprzereagowanego kwasu akrylowego. Analizę przeprowadzono przy użyciu spektrofotometru UVS-2800 firmy Labomed, Inc., używając kwarcowych kuwet. Pomiar rejestrowano przy zakresie długości fali od 190 do 400 nm.

Wykonano pięciopunktową krzywą wzorcową dla kwasu akrylowego o stężeniach 0,08 mmol/l – 0,4 mmol/l. Rysunek 1 przedstawia otrzymaną krzywą kalibracyjną, na bazie której określono zawartość kwasu akrylowego w badanych próbkach hydrożeli.

Tabela 2. Ilościowy udział składników użytych do syntezy próbek hydrożelu o zróżnicowanej zawartości pektyny wysokometylowanej

Nazwa próbki	Pektyna [g]	Kwas akrylowy [g]	MBA [g]	K ₂ S ₂ O ₈ [g]	NaOH [g]	H ₂ O [g]	$\frac{m_{pek}^*}{m_{AA}}$ [g/g]
P1_3A	0,000	30	0,0185	0,121	5,008	130,46	0,000
P1_3B	1,004						0,033
P1_3C	2,011						0,067
P1_3D	3,009						0,100
P1_3E=P1_3	5,000						0,167
P1_3F	7,007						0,234
P1_3G	10,000						0,333

*Stosunek masy pektyny wysokometylowanej (m_{pek}) do masy kwasu akrylowego (m_{AA})



Rysunek 1. Krzywa kalibracyjna dla kwasu akrylowego

Próbki hydrożeli do analizy zostały przygotowane w następujący sposób: Odważono (0,1g) każdej próbki hydrożelu przeniesiono ilościowo do kolby stożkowej o pojemności 250 ml po czym dodano 100 ml 1% NaCl. Materiał badawczy umieszczono na

wytrząsarce i przez 72h ekstrahowano. Po tym czasie próbki przesączono, a supernatant poddano analizie spektrofotometrycznej.

Ocena właściwości absorpcyjnych

W doświadczeniu przeprowadzono ocenę właściwości absorpcyjnych zsyntetyzowanych hydrożeli w zależności od pH środowiska. W tym celu przygotowano siedem buforów cytrynianowo – fosforanowych wg McIlvaine'a o następujących wartościach pH: 2,2; 3; 4; 5; 6; 7; 8.

Próbki hydrożeli o masie 0,1g spęczniano metodą dynamiczną przy użyciu mieszałki magnetycznego przez 24h w 200 ml wyżej wymienionych buforów. Po tym czasie odsączono niezaabsorbowaną wodę przy użyciu filtra tkaninowego, a spęczniane hydrożele zważono.

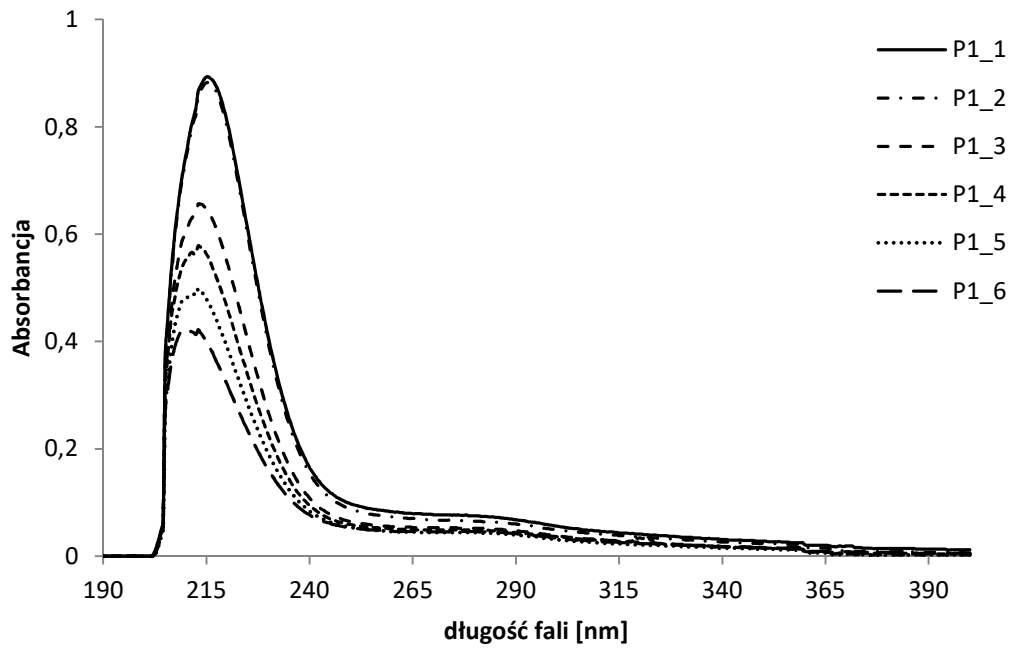
Wodochłonność obliczono ze wzoru:

$$W = \frac{m_{\text{żelu}} - m_{\text{suchej próbki}}}{m_{\text{suchej próbki}}} \cdot 100\%$$

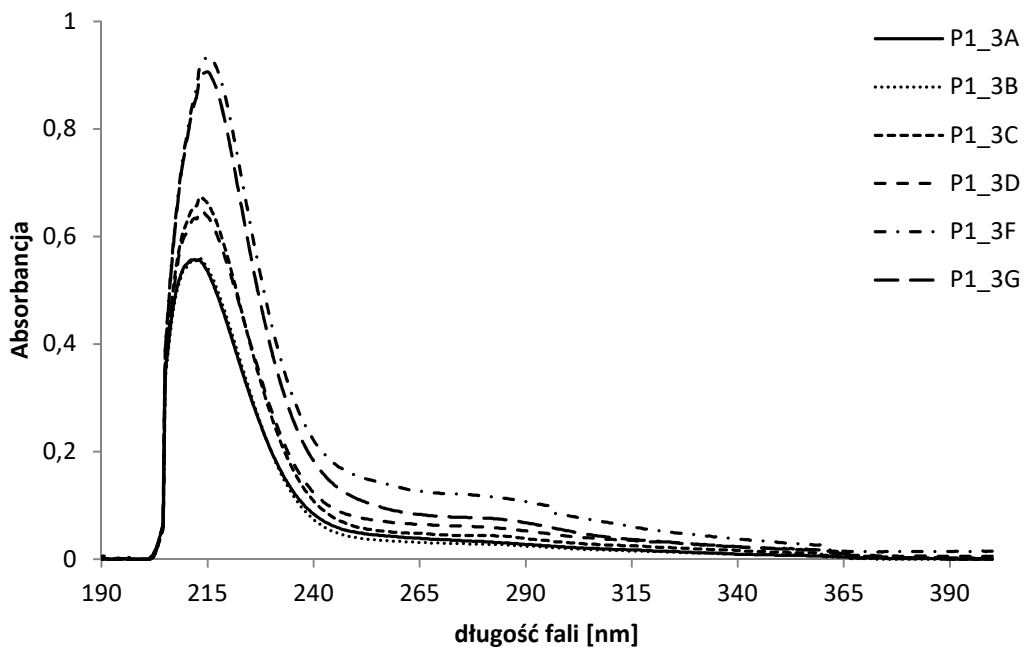
Wyniki i dyskusja

Analiza spektrofotometryczna UV-VIS

W reakcjach polimeryzacji odpowiedni dobór parametrów syntezy determinuje właściwości uzyskanych materiałów polimerowych, a także pozwala na uzyskanie pożądanej struktury materiału. Nie bez znaczenia jest również jakościowy oraz ilościowy dobór substratów reakcji. Nieodpowiedni dobór parametrów syntezy może powodować, że reakcja polimeryzacji nie zajdzie, bądź zajdzie w sposób niecałkowity [Kowalski i in. 2017]. Z uwagi na to materiał badawczy poddano analizie spektrofotometrycznej UV-VIS w celu określenia ilości nieprzereagowanego monomeru kwasu akrylowego w procesie syntezy hydrożelu. Pomiar przeprowadzano w zakresie długości fali 190 – 400 nm. W pierwszej części doświadczenia przeprowadzono analizę całego spektrum absorbancji. Otrzymane widma absorpcyjne dla dwóch serii próbek przedstawiono na rysunkach 2 i 3. Rysunek 2 przedstawia widma próbek o zróżnicowanej zawartości środka sieciującego w zakresie (0,00016 – 0,00268 g/g, w odniesieniu do kwasu akrylowego). Na rysunku 3 zestawiono widma próbek hydrożelu o zróżnicowanej zawartości pektyny (0-0,33 g/g, w odniesieniu do kwasu akrylowego).

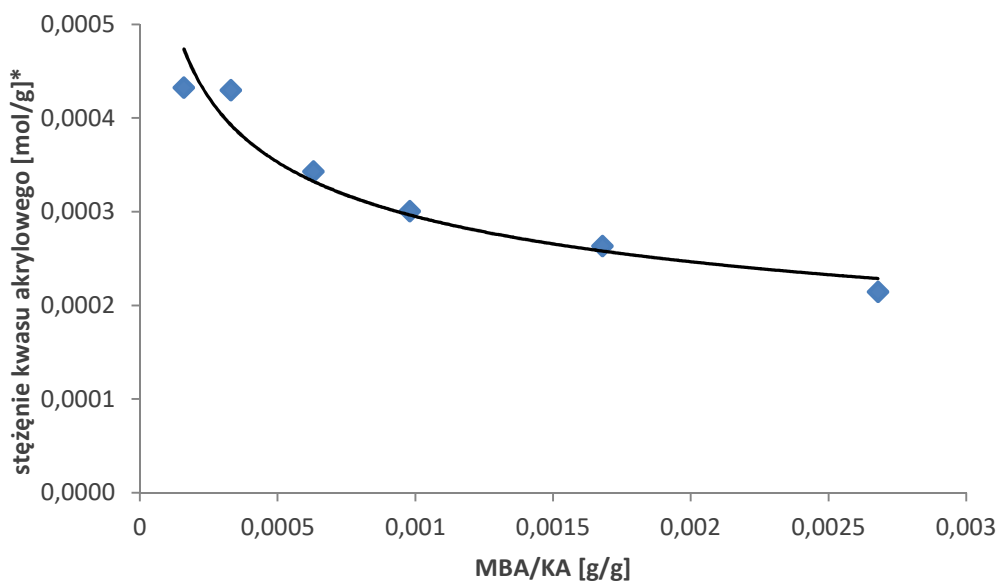


Rysunek 2. Widma UV/VIS dla próbek o zróżnicowanej zawartości środka sieciującego – N,N'-metylenobisakryloamidu



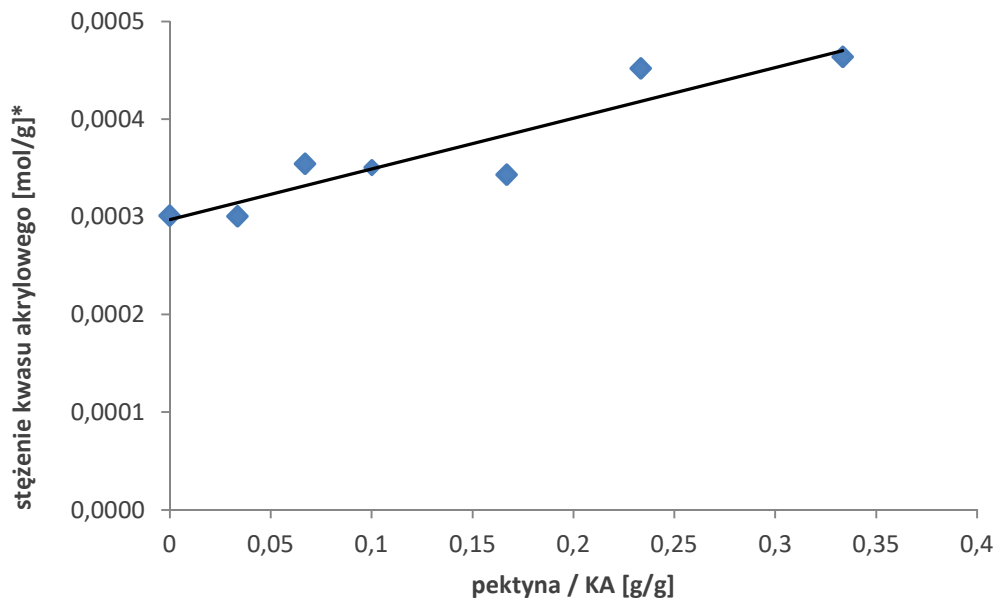
Rysunek 3. Widma UV/VIS dla próbek o zróżnicowanej zawartości pektyny wysokometylowanej

Na powyższych wykresach można zaobserwować charakterystyczny pik będący maksymalną wartością absorbancji przy określonej długości fali, wskazujący na obecność chromoforów w próbkach. Według danych literaturowych maksimum absorbancji przy długości fali 209 nm odpowiada obecności kwasu akrylowego zawierającego w swojej budowie chemicznej podwójne wiązanie C=C [Brzeźnicki i in. 2013]. W celu ilościowej analizy zawartości nieprzereagowanego kwasu akrylowego, przygotowano pięciopunktową krzywą kalibracyjną dla kwasu akrylowego o zakresie stężeń 0,00008 – 0,0004 [mol/l] (rysunek krzywej kalibracji przedstawiono w procedurze wykonania doświadczenia). Na podstawie krzywej wzorcowej oznaczono zawartość kwasu akrylowego w poszczególnych próbkach.



*w przeliczeniu na 1g próbki hydrożelu

Rysunek 4. Zależność ilości nieprzereagowanego kwasu akrylowego (KA) od zawartości środka sieciującego N,N'-metylenobisakryloamidu (MBA) w próbkach hydrożeli



*w przeliczeniu na 1g próbki hydrożelu

Rysunek 5. Zależność ilości nieprzereagowanego kwasu akrylowego (KA) od zawartości pektyny wysokometylowanej w próbkach hydrożeli

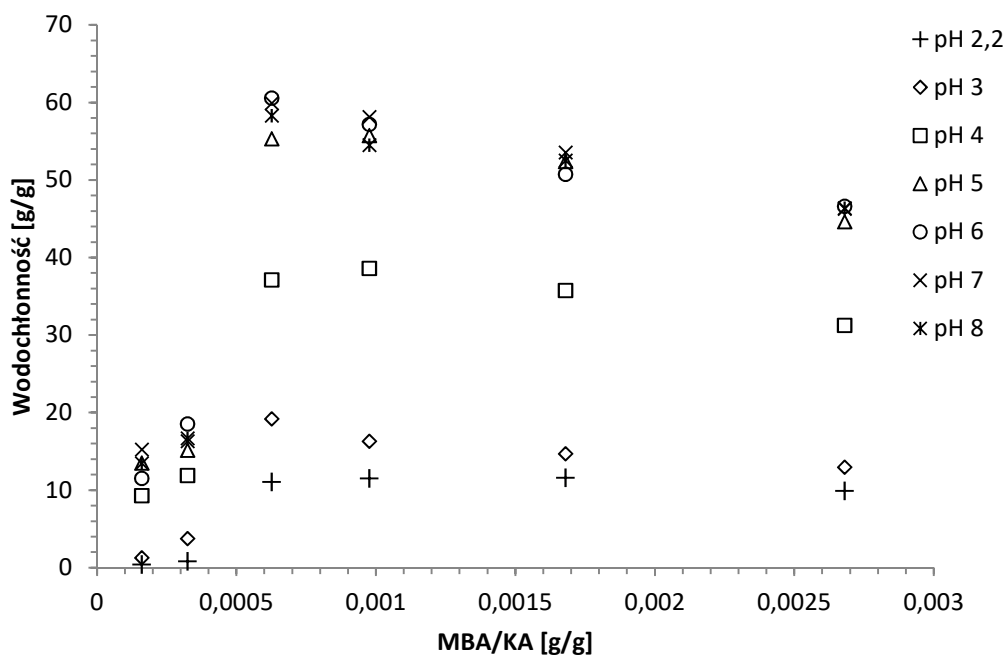
Obecność środka sieciującego powoduje wytworzenie kowalencyjnych wiązań poprzecznych w hydrożelu, dzięki czemu sieć polimerowa jest bardziej stabilna i zwarta, przez co mniej podatna na degradację. Rysunek 4 przedstawia wpływ stosunku zawartości środka sieciującego – N,N'-metylenobiskryloamidu na ilość nieprzereagowanego kwasu akrylowego w superabsorbencie. Zaobserwowano, że wraz ze wzrostem udziału masowego środka sieciującego w hydrożelach, ilość nieprzereagowanego kwasu akrylowego zmniejszała się. Z tego wynika, że zbyt mała ilość środka sieciującego w mieszaninie reakcyjnej prowadzi do niepełnej reakcji sieciowania.

W przypadku hydrożeli zróżnicowanych ilością pektyny w mieszaninie reakcyjnej zaobserwowano przeciwną zależność przedstawioną na rysunku 5. W miarę wzrostu udziału pektyny jako składnika hydrożeli, ilość wolnych wiązań C=C zwiększała się. Obecność pektyny w strukturze hydrożelowej powoduje zwieszenie nieuporządkowania sieci. Pektyna jest polimerem heterogenicznym o bardzo zróżnicowanej strukturze chemicznej. Zbyt duża ilość pektyny w stosunku do monomeru kwasu akrylowego może powodować ograniczony dostęp środka sieciującego do cząsteczek monomeru, w efekcie czego zwiększył się udział nieprzereagowanego kwasu akrylowego.

Wodochłonność

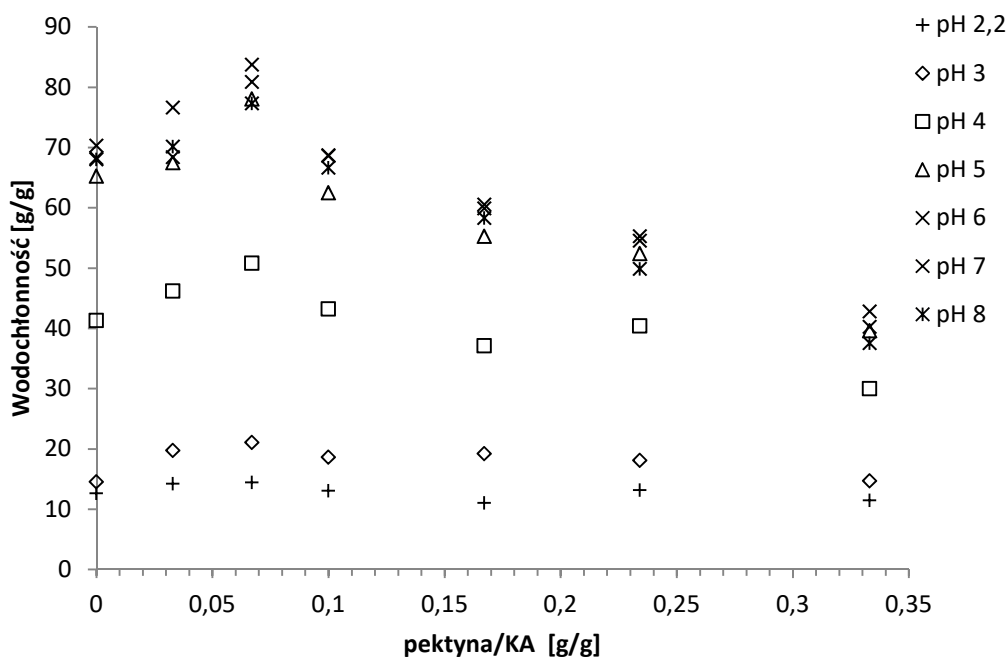
W przypadku hybrydowych materiałów hydrożelowych podstawowym parametrem oceniającym przydatność materiałów jest wodochłonność. Dzięki zdolności do chłonięcia i zatrzymywania w swojej strukturze wody materiały te znajdują szerokie zastosowanie, począwszy od nawozów do materiałów biomedycznych. Właściwości absorpcyjne hydrożeli są wypadkową wielu czynników. Woda oraz jej roztwory są pochłaniane przez hydrożel dzięki obecności hydrofilowych grup, które są uwadnianie w pierwszej kolejności. Struktura hydrożelu rozszerza się przyjmując kolejne porcje wody w miarę solwatacji polarnych grup. Napęczniała sieć hydrożelowa eksponuje grupy hydrofobowe, które pod wpływem działania sił elektrostatycznych odpychają się, powodując zwiększenie wielkości porów. Kolejne porcje wody są absorbowane pod wpływem działania ciśnienia osmotycznego [Hoffman, 2012].

Trójwymiarowa, hydrofilowa sieć hydrożelu, usieciowana fizycznie bądź chemicznie, może stanowić idealny materiał do utworzenia matrycy, uwalniającej w sposób kontrolowany daną substancję. Aby materiał hydrożelowy mógł znaleźć takie zastosowanie powinien wykazywać wrażliwość na stymulację pod wpływem zmian warunków środowiska, tj. wartość pH, temperatury, siły jonowej [Utrata-Wesołek i in., 2008; Cui i in., 2017]. Na rysunku 6 przedstawiono wyniki wodochłonności dla próbek ze zróżnicowaną zawartością środka sieciującego.



Rysunek 6. Wpływ zawartości środka sieciującego na wodochłonność hydrożeli, MBA (N, N'-metylenobisakryloamid), KA (kwas akrylowy)

Próbki spęczniane w buforze wykazywały w miarę wzrostu wartości pH początkowo wzrost wodochłonności, a po przekroczeniu wartości pH 6-7 ilość zaabsorbowanego płynu w próbkach zaczęła się zmniejszać. Największą wodochłonność uzyskano spęczniając hydrożele w buforze o wartości 6-7. Najniższą wodochłonność uzyskano spęczniając próbki w buforze o wartościach pH 2,2. Na przedstawionym wykresie można zaobserwować, że stosunek zawartości środka sieciującego w odniesieniu do monomeru znacząco wpływa na osiąganą wartość wodochłonności. W miarę wzrostu ilości N,N'-metylenobisakrylamidu, ilość zaabsorbowanego płynu zwiększała się, do osiągnięcia maksimum w hydrożelach o stosunku ilościowym MBA do KA 0,0006 [g/g]. Większy udział dodatku środka sieciującego powodował spadek wodochłonności. Obecność środka sieciującego powoduje wytworzenie kowalencyjnych wiązań poprzecznych w hydrożelu, dzięki czemu sieć polimerowa jest bardziej stabilna i zwarta, przez co mniej podatna na degradację.



Rysunek 7. Wpływ zawartości pektyny wysokometylowanej na wodochłonność hydrożeli

Materiały hydrożelowe wykazujące wrażliwość na zmiany warunków środowiska są obiecującymi materiałami w systemach kontrolowanego uwalniania leków. Wrażliwość superabsorbentów na zmiany wartości pH powoduje zmiany konformacji łańcucha polimerowego w określonych warunkach [Utrata-Wesołek i in., 2008]. Makrocząsteczki o charakterze polikwasowym w środowisku o niskim pH ulegają agregacji i wytrąceniu z roztworu. Jest to spowodowane oddziaływaniami wodorowymi pomiędzy

niezdysocjowanymi grupami karboksylowymi w łańcuchu polikwasów. W wyższych wartościach pH polimer przechodzi do roztworu, ponieważ grupy karboksylowe ulegają jonizacji i powodują rozluźnienie łańcucha odpychając się. W przypadku polisacharydów polimer rozpuszcza się przy niskich wartościach pH, ponieważ czwartorzędowe grupy aminowe ulegają jonizacji i odpychają się, natomiast w środowisku zasadowym polimer ulega wytrąceniu z roztworu [Utrata-Wesołek i in., 2008; Ma i in., 2011; Mumarin i in., 2012; Neufeld i in., 2017].

Z przeprowadzonego doświadczenia dla próbek zawierających zróżnicowane ilości pektyny wysokometylowanej (rysunek 7) wynika, że największe wartości wodochłonności uzyskały wszystkie hydrożele spęczniane w buforze o pH 7. W miarę obniżania się wartości pH ilość wchłoniętej wody zmniejszała się. Drastyczny spadek wodochłonności nastąpił od wartości pH poniżej 4. Podobnie jak w przypadku zróżnicowanego dodatku środka sieciującego, obserwuje się początkowo wzrost ilości wchłoniętego płynu w miarę wzrostu dodatku pektyny, a po przekroczeniu określonego dodatku polisacharydu, wodochłonność zmniejsza się. Przy stosunku zawartości pektyny do kwasu akrylowego 0,067 [g/g] hydrożel osiąga największą wodochłonność. W próbkach zawierających dodatek pektyny w ilości przekraczającej 0,333 [g/g KA] ilość zaabsorbowanej wody jest mniejsza niż w przypadku braku dodatku pektyny.

Podsumowanie

Gęstość sieciowania jest głównym czynnikiem decydującym o zwartej strukturze hydrożelu i jest determinowana ilością czynnika sieciującego. Ilość środka sieciującego określa wielkość porów w hydrożelach, a co za tym idzie wpływa na uzyskiwaną wodochłonność. Dodatek biokomponentu, w tym wypadku pektyny wpływa korzystnie na uzyskiwane właściwości hydrożelu. Przede wszystkim warto zaznaczyć, że taki materiał jest biodegradowalny, a z uwagi na charakter chemiczny pektyny wysokometylowanej, pozwala na polepszenie właściwości absorpcyjnych hydrożelu. Złożona, nieuporządkowana struktura pektyny powoduje zwiększenie ilości nieprzereagowanego monomeru, przy czym niewielki dodatek pektyny nieznacznie zwiększa ilość nieprzereagowanego kwasu akrylowego, a powoduje zwiększenie wodochłonności. Otrzymane wyniki wskazują na fakt, że zsyntetyzowany hydrożel na bazie pektyny wysokometylowanej wykazuje wrażliwość na zmianę wartości pH.

Podsumowując należy stwierdzić, że hybrydowe materiały hydrożelowe z dodatkiem pektyny wysokometylowanej wykazują duży potencjał w systemach uwalniających substancję w sposób kontrolowany.

Badania zostały sfinansowane z dotacji przyznanej przez MNiSW na działalność statutową

Literatura

1. Brzeźnicki S., Bonczarowska M., Gromiec J. (2013). Oznaczanie kwasu akrylowego w powietrzu środowiska pracy metodą wysokosprawnej chromatografii cieczowej. *Podstawy i Metody Oceny Środowiska Pracy*, 1(75), 139-151.
2. Chan S.Y., Coo W.S., Young D.J., Loh X.J. (2017). Pectin as a rheology modifier: Origin, structure, commercial production and rheology. *Carbohydrate Polymers* 161, 118-139
3. Cui S., Yao B., Gao M., Sun X., Gou D., Hu J., Zhou Y., Liu Y. (2017). Effects of pectin structure and crosslinking method on the properties of crosslinked pectin nanofibers. *Carbohydrate Polymers*, 157, 766-774.
4. Florjanczyk Z., Dębowski M., Chwojnowska E., Łokaj K., Ostrowska J. (2009). *Polimery*, 10, 613-616.
5. Hoffman A.S. (2012). Hydrogels for biomedical applications. *Advances Drug Delivery Reviews*, 64, 18-23.
6. Jung J., Arnold R.D., Wicker L. (2013). Pectin and charge modified pectin hydrogel beads as a colon-targeted drug delivery carrier. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 104, 116-121.
7. Karpiński R., Górniak B., Maksymiuk J. (2015). Biomedyczne zastosowania polimerów – materiały opatrunkowe. *Nowoczesne trendy w medycynie*, 18-32.
8. Kijowska K., Kowalski G. (2017). Właściwości i zastosowanie hybrydowych hydrożeli w materiałach biomedycznych. *Prace Młodych Pracowników Nauki i Doktorantów*, 3, 60-71.
9. Kowalski G., Kijowska K., Łukasiewicz M., Witczak T., Grzesik M. (2017). Synthesis of Hydrogels Based on High-Methoxyl Pectin Modified with Different Crosslinking Agent. 44th International Conference of SSCHE, Demänovská dolina, Słowacja
10. Kowalski G., Jasieniak A., Witczak T. (2013). XLI Sesja Naukowa Komitetu Nauk o Żywności PAN „Innowacyjność w nauce o żywności i żywieniu”, 2-3 lipiec, Kraków
11. Lopes L.C., Simas-Tosin F.F., Cipriani T.R., Marchesi L.F., Vidotti M., Riegel-Vidotti I.C. (2017). Effect of low and high methoxyl citrus pectin on the properties of polypyrrole based electroactive hydrogels. *Carbohydrate Polymers*, 155, 11-18.
12. Ma X., Wei R., Cheng J., Cai J., Zhou J. (2011). Synthesis and characterization of pectin/poly (sodium acrylate) hydrogels. *Carbohydrate Polymers*, 86, 313-319.
13. Munarin F., Tanzi M.C., Petrini P. (2012). Advances in biomedical applications of pectin gels. *International Journal of Biological Macromolecules*, 51, 681-689.
14. Neufeld L., Bianco-Peled H. (2017). Pectin-chitosan physical hydrogels as potential drug delivery vehicles. *International Journal of Biological Macromolecules* 101,852-861.
15. Noreen A., Nazli Z.H., Akram J., Rasul I., Mansha A., Yaqoob N., Iqbal R., Tabasum S., Zuber M., Zia K.M. (2017). Pectin functionalized biomaterials; a new viable approach for biomedical applications: A review. *International Journal of Biological Macromolecules*, 101, 254-272.
16. Pińkowska H., Złocińska A. (2014). Pektyny – występowanie, budowa chemiczna i właściwości. *Wiadomości Chemiczne*, 68, 683-700.
17. Rezvanian M., Ahmad N., Amid M.C.I. (2017). Optimization, characterization, and in vitro assessment of alginate-pectin ionic cross-linked hydrogel film for wound dressing applications. *International Journal of Biological Macromolecules* 97, 131-140.
18. Ridley L., Malcolm A, O'Neill, Mohnen D. (2001). Pectins: structure, biosynthesis, and oligogalacturonide-related signaling. *Phytochemistry* 57, 929-967.
19. Thambi T., Li Y., Lee D.S. (2017). Injectable hydrogels for sustained release of therapeutic agents. *Journal of Controlled Release* 267, 57-66.
20. Thavasyappan T., Yi L., Doo S.L. (2017). Injectable hydrogels for sustained release of therapeutic agents. *Journal of Controlled Release*. 267, 57-66.
21. Utrata-Wesołek A., Trzebicka B., Dworak A. (2008). Polimery wrażliwe na bodźce (I). *Polimery*, 53 (10), 717-724.
22. Waszkiewicz-Robak B. (2005). Pektyny i ich zastosowanie w przemyśle spożywczym. *Agroprzemysł*, 4, 705-718.
23. Wikiera A., Mika M. (2012). Budowa i właściwości pektyn. *Postępy Biochemii*, 59(1), 89-94.
24. Wyreńska Ł., Szuster L., Stawska H. (2014). Synteza i aplikacja nowych pochodnych wybranych polisacharydów. *Technologia i Jakość Wyrobów*, 59, 3-16.
25. Zdarta J.Ł. (2017). Immobilizacja enzymów na wybranych nośnikach organicznych i nieorganicznych. Praca doktorska, Politechnika Poznańska.

LIBOR ČERVENKA¹, TOMÁŠ HÁJEK¹, IVETA BROŽKOVÁ²

¹*Department of Analytical Chemistry, Faculty of Chemical Technology, University of Pardubice*

²*Department of Biological and Biochemical Sciences, Faculty of Chemical Technology, University of Pardubice*

RAW VEGAN MEAL: THE EFFECT OF MODERATE DRYING TEMPERATURE ON ANTIOXIDANT PROPERTIES AND MICROBIAL CONTAMINATION

A raw food vegan (RFV) diet is one that consists of only uncooked plant-derived products. Since the fresh food products can deteriorate during storage, the moderate temperature treatment is allowed up to 46°C according to the popular literature [Russo, 2009]. RFV adherents believe that plant-derived food prepared in such a way keep the nutrients almost untouched.

1. Antioxidant status and microbial load in commercially available products for RFV diet

Raw food (thermally unprocessed) was obviously available in market prepared from products of „bio” origin, i.e. processed according to the Council regulation (ES) no. 834/2007 on organic production and labelling organic products. Those were treated by mild heating at up to 42°C and keep under modified atmosphere packages. The information about temperature treatment provided by the manufacturer is indicative for being a raw product though it is hardly to be confirmed it by any analytical method. In our initial experiment, we have analysed different kind of fruit bars and crackers [Červenka et al., 2016a]. We have found that total viable count ranged from log 2.68 to log 4.34 CFUg⁻¹ in all the samples, yeasts yielded up to log 3.70 CFUg⁻¹, fungi to 3.67 CFUg⁻¹ and a great variability of coliforms has been detected, probably due to the presence of ingredients with antimicrobial activity [McClellan et al., 2014]. Aerobic spore-forming bacteria were also detected in all the samples, more in fruit bars than in crackers. As was expected, high antioxidant activity was determined in terms of DPPH and ABTS assays. Trolox equivalent activity ranged from 1.70 to 20.21 mg/g d.b. and from 16.6 to 139.0 mg/g d.b. for DPPH and ABTS assays, respectively. High amount of phenolics (1.09–3.97 mg/g of gallic acid), flavonoids (0.06–0.55 mg/g of quercetin) and condensed tannins (0.06–0.54 mg/g of catechin) was determined using spectrophotometric assays. The presence of antioxidant enzymes in fruit bars and crackers was confirmed showing the activity of catalase (9.00–20.88 U/g), superoxide dismutase (19.0–54.5 % of inhibition), ascorbate peroxidase (0.54–4.59 U/ml) and lipid peroxidase inhibition in the range from 14.0–90.3%. Although the presence of enzymes in those products does

not necessarily indicate mild temperature treatment, we may exclude thermal process at higher temperatures (i.e. > 80°C). For instance, activity of ascorbate oxidase was completely lost after heating for 4 min at 65°C [Maccaronne et al., 1993]. Fresh fruit and vegetables were used for determination of enzymatic activity for comparison purposes in our study, and we have found similar results of enzymatic activity.

2. How does drying temperature affect the antioxidant activity? Meta-analytical approach of results

For domestic purposes, drying with circulated hot air using kitchen oven or food dehydrator is the only technique used in domestic environment. This technique is increasingly utilized for the preparation of vegetarian or vegan foods, particularly for those who follow RFV diet. They believe that high temperature treatment destroys the key nutrients, therefore drying at up to 46°C is allowed for preparation of RVF diet. Several review papers concluded that low temperature treatment favor the nutrient content in dried fruits and vegetables [Sablani, 2006; Santos and Silva, 2008], however some have not been consistent in their results [Oliveira et al., 2016]. In an individual experiment level, both decrease and increase in nutrient content during drying of fruit of vegetable have been observed. In reviews, authors' conclusions were usually based in their experience and knowledge and the methodology lacks of any information about the searching for results in scientific databases. Statistical analysis of such data was also omitted. Therefore, we used statistical approach obviously used in medical research: systematic review followed by meta-analysis of data. The effect of drying temperature (40–80°C) on the content of ascorbic acid, total phenolics and flavonoids, and total anthocyanin content was assessed. The methodology of searching and statistical treatment were described in our recent paper [Červenka et al., 2017a]. We identified 49 scientific papers matching our criteria and followed the calculation of response ratio. We hypothesised whether drying at 40°C is favorable to nutrient content in comparison to that at 50°C, 60°C or 70–80°C. Ascorbic acid content seemed to be sensitive to the increase of drying temperature. According the selected studies, drying of fruits and vegetables at 50°C resulted in small (-5.3%) but significant decrease of ascorbic acid content. Further increase of drying temperature caused pronounced degradation of ascorbic acid. Total phenolic and anthocyanin contents (measured by spectrophotometric assay) significantly decreased at the highest drying temperatures (i.e. 70–80°C) while drying at 40–60°C gave similar results [Červenka et al., 2017b]. Total flavonoid content did not change significantly during drying. It means that the drying at 40°C has no benefit with respect to the total phenolic, flavonoid and anthocyanin contents.

3. The effect of moderate drying temperature on buckwheats-based products

In order to assess how the low drying temperature (40°C) or higher (50°C and 60°C) affects the microbial load and antioxidant properties of RFV diet, we have prepared mixtures of buckwheats with other ingredients (hazelnuts, cashew, goji berries, flaxseeds or prunes) according to following recipe: the ingredients were separately soaked in sterile tap water for 20 h at ambient temperature, then water was removed, ingredients were mixed and cylinder-type cookies were formed. After drying at 40°C, 50°C and 60°C for 20 h, antioxidant properties and microbial load were examined.

In a first batch of buckwheats-based products (prepared from buckwheats flakes), we have found that microbial load (total viable count) increased to $> \log 7.48 \text{ CFUg}^{-1}$ after drying at 40°C even the average microbial contamination of ingredients ranged from $\log 3.5$ to $\log 4.0 \text{ CFUg}^{-1}$ [Brožková et al., 2016a]. Since the soaking of ingredients was performed at ambient temperature, one can hypothesise that growth of microorganisms may occur during this phase of manufacturing process [Wang et al., 2016]. The same behaviour was found for total coliform counts, but not for fungi, yeast or aerobic spore-forming bacteria where similar load has been detected after drying at 40°C. In a second batch of buckwheat products (prepared from buckwheat groats), excessive load ($> \log 7.48 \text{ CFUg}^{-1}$) for total viable, total coliform and aerobic spore-forming bacteria has been observed [Brožková et al., 2016b]. Consuming those products (i.e. dried at 40°C) may have a serious health implication. The improvement of microbial quality was achieved by drying at 50°C for yeasts and total coliform count, however with no or little effect on total viable count and aerobic spore-forming bacteria. Microbials-safe buckwheat products were obtained after drying 60°C for 20 h.

In both batches of buckwheat-based products, significant decrease in antioxidant properties measured by DPPH and ABTS radical scavenging assays has been observed when compared fresh (soaked and undried) products with those being dried. However, statistically non-significant changes were determined among products dried at different temperatures. Superoxide dismutase activity remained unchanged or decreased with the increase of drying temperature. The quality of lipids measured by peroxide and TBARS values was not influenced by the drying temperature. In other words, increase of drying temperature up to 60°C significantly reduced microbial load but remained antioxidant status almost unchanged.

4. The effect of soaking regime on microbial load and antioxidant properties of buckwheat-based products

In previous experiments, soaking process of ingredients was identified as the critical point during manufacturing of buckwheat-based products designed for RFV diet. Therefore, various soaking regimes were assessed in a further experiment. The

ingredients (buckweats groats, hazelnuts and prunes) were soaked in sterile tap water at 20°C and 5°C. Soaking water was changed after 6 h, ingredients were washed and the same volume of fresh water was added for further incubation (up to 20 h). The sample was also soaked without changing the soaking water [Brožková et al., 2018].

We examined the content of *Escherichia coli* (artificially inoculated) in buckweats-based cookies and found that soaking at 20°C led to the proliferation of *E. coli*, while reduced at 5°C. However, drying buckweats-based cookies at 40°C increased *E. coli* to an unacceptable level ($> \log 6.0 \text{ CFUg}^{-1}$). *E. coli* count was significantly reduced after drying at 50°C in our experiment. The soaking of ingredients also resulted in the excessive growth of yeasts and fungi. While drying at 40°C did not affect yeast and fungi contents, drying at 50°C was sufficient to increase their counts.

Total phenolic and flavonoid contents were determined in buckwheat-based products after soaking and subsequent drying at various temperatures (40–70°C). Higher content of total phenolics was found after soaking at 5°C than at 20°C, while total flavonoid content exhibited similar levels. The changing of soaking water has no significant effect on the content of total phenolics and flavonoids. Drying led to the increase of total phenolics but not of total flavonoids. Soaking temperature has no effect on the antioxidant properties but changing steeping water significantly influenced the inhibition of DPPH and ABTS radicals. Rutin and quercetin, a major flavonoid component in buckweats were also determined. We have found that soaking regime did not affect their content, however higher amount of quercetin was found when soaked at 5°C. As was shown in our study, rutin content exhibited growing trend with the increase of temperature, whereas quercetin levels showed random values with respect to the increasing drying temperature. This behaviour may reflect the fact that rutin but not quercetin was readily extracted from the buckweats sample dried at higher temperatures as was reported for hydrothermally treated Tartary buckwheat flour [Lukšić et al., 2016].

As drying of food at higher temperatures may increase the formation of Maillard products causing the loss of essential amino acids and production of toxic substances, advanced Maillard products were also monitored via determination of FAST index (loss of tryptophan). Drying buckweats-based products at 40–60°C showed slight but gradual increase in FAST index (up to 46% in comparison to raw matter). Steep increase was observed in products after drying at 70°C (2–3 times higher higher).

Conclusion

Based on the experimental results, we strongly recommend followings: if one can adhere to a raw food vegan diet, prepare vegan meal with ingredients of the known origin and familiar supplier/manufacturer. High microbial contamination, particularly of spore-forming bacteria, may lead to health concerns even after drying at 50°C. Soaking of

ingredients in tap water at ambient temperature ensure the growth of microorganisms, which can be further supported by drying at low temperature (40°C). Soaking in fridge, changing the soaking water and drying at 50–60°C may provide a safe meal with minimal impact on the antioxidant properties.

References

1. Brožková I., Červenka L., Dvořáková V., Michálková K., Velichová H. (2016a). The effect of processing temperature on microbial safety and antioxidant activity of minimally processed “raw food”. *Journal of Food and Nutrition Research*, 55(4), 352-360
2. Brožková I., Dvořáková V., Michálková K., Červenka L., Velichová H. (2016b). Quality and antioxidant activity of buckwheat-based cookies designed for a raw food diet as affected by moderate drying temperature. *Plant Foods for Human Nutrition*, 71, 429-435.
3. Brožková I., Zapletal T., Kroutilová L., Hájek T., Mořková P., Červenka L. (2018). The effect of soaking regime and moderate drying temperature on the quality of buckwheat-based product. *Journal of Cereal Science*, 81, 15-21.
4. Červenka L., Brožková I., Fišerová T. (2016a). The quality of fruit bars and crackers designated for the raw food vegan diet. *Scientific Papers of the University of Pardubice, Series A Faculty of Chemical Technology*, 22, 5-13.
5. Červenka L., Červenková Z., Velichová H. (2017a). Is air-drying of plant-based food at low temperature really favorable? A meta-analytical approach to ascorbic acid, total phenolic, and total flavonoid contents. *Food Reviews International*, doi: 10.1080/87559129.2017.1307389.
6. Červenka L., Červenková Z., Velichová H. (2017b). Is low drying temperature favorable towards quality of fruits and vegetables? Meta-analysis of data. In: *Nové trendy v gastronomii, hotelnictví a cestovním ruchu, Vysoká škola obchodní a hotelová, Brno*, 11-16.
7. Lukšić L., Árvay J., Vollmannová A., Tóth T., Škrabanja V., Trček J., Germ M., Kreft I. (2016). Hydrothermal treatment of Tartary buckwheat grain hinders the transformation of rutin to quercetin. *Journal of Cereal Science*, 72, 131-134.
8. Maccarrone M., D'Andrea G., Salucci M.L., Avigliano L., Finazzi-Agró A. (1993). Temperature, pH and UV irradiation effects on ascorbate oxidase. *Phytochemistry*, 32(4), 795-798.
9. McClean S., Beggs, L.B., Welch R.B. (2014). Antimicrobial activity and antihypertensive food-derived peptides and selected alanine analogues. *Food Chemistry*, 146, 443-447.
10. Oliveira S.M., Brandão T.R.S., Silva C.L.M. (2016). Influence of drying processes and pretreatment on nutritional and bioactive characteristics of dried vegetables: a review. *Food Engineering Reviews*, 8, 134-163.
11. Russo R. (2009). *The raw food lifestyle: The philosophy and nutrition behind raw and live foods*. Berkeley, CA: North Atlantic Books.
12. Sablani S.S. (2006). Drying of fruits and vegetables: Retention of nutritional/functional quality. *Drying Technology*, 24, 123-135.
13. Santos P.H.S., Silva M.A. (2008). Retention of vitamin C in drying process of fruits and vegetables—a review. *Drying Technology*, 26, 1421-1437.
14. Wang J., Park J.H., Chio N.J., Ha S.D., Oh D.H. (2016). Microbiological analysis of rice cake processing in Korea. *Journal of Food Protection*, 79, 157-162.

ALINA KUNICKA-STYCZYŃSKA¹, AGNIESZKA TYFA¹¹Zakład Mikrobiologii Technicznej, Instytut Technologii Fermentacji i Mikrobiologii,
Politechnika Łódzka w Łodzi**BAKTERIE ALICYCLOBACILLUS ACIDOTERRESTRIS
ORAZ KONTROLA ICH ROZWOJU PRZEZ NATURALNE SUBSTANCJE
POCHODZENIA ROŚLINNEGO****Charakterystyka bakterii *Alicyclobacillus acidoterrestris***

Pierwsze doniesienia na temat bakterii *Alicyclobacillus acidoterrestris* pojawiają się pod koniec XX wieku [Deinhard i in., 1987; Wisotzkey i in., 1992]. Przymiotnik gatunkowy „*acidoterrestris*” oznacza dosłownie kwasolubny (*acidum*) i wyizolowany z gleby (*terrestris*), co jednoznacznie określa środowisko bytowania tych bakterii. *A. acidoterrestris* to Gram-dodatnie, tlenowe, ruchliwe pałeczki o wymiarach 2,9-4,3µm×0,6-0,8µm. Wytwarzają przetrwalniki (1,5-1,8 µm×0,9-1,0 µm) ułożone terminalnie lub subterminalnie. Zawartość par zasad G+C wynosi 51,6-53,3 mol% [Deinhard i in., 1987; Wisotzkey i in., 1992; Yamazaki i in., 1996]. W ścianie komórkowej bakterii występują kwasy tłuszczowe: ω-cykloheksanowe C_{17:0}, C_{19:0}, kwas palmitynowy C_{16:0}, kwasy izo C_{17:0}, anteizo C_{17:0}, kwasy izo C_{15:0} i anteizo C_{15:0} oraz hopanoidy i sulfonolipidy [Wisotzkey i in., 1992; Matsubara i in., 2002; Goto i in., 2007]. Nie wytwarzają indolu, są oksydazo-ujemne, katalazo-dodatnie i zazwyczaj nie wytwarzają acetoiny [Deinhard i in., 1987].

Pomimo, że *A. acidoterrestris* określane są jako bakterie acydotermofilne, to wykazują wzrost w szerokim zakresie pH 2,2-6,0, z optimum 4,0 [Deinhard i in., 1987; Cerny i in., 1984; Wisotzkey i in., 1992]. Szczepy wyizolowane z zepsutych kwaśnych napojów wykazywały wzrost w zakresie pH 2,5-6,0 [Yamazaki i in., 1996]. Odnotowano także wzrost izolatów tych bakterii z zagęszczonych polskich soków jabłkowych, w pH 2,5-6,0; z optimum 3,5-5,0 [Sokołowska i in., 2010]. Bakterie *A. acidoterrestris* cechuje również wzrost w szerokim przedziale temperatury, 20-60°C, z optimum 40-53°C [Deinhard i in., 1987; Yamazaki i in., 1996; Sokołowska i in., 2010]. Skrajne wartości temperatur, w których obserwowano wzrost to 19,5°C i 57,7°C [Jensen i Whitfield, 2003].

Występowanie w żywności

A. acidoterrestris zostały po raz pierwszy wyizolowane z zepsutego pasteryzowanego soku jabłkowego w Niemczech [Cerny i in., 1984]. Od tego czasu uznawane są za bakterie najczęściej zanieczyszczające przetwory owocowe i warzywne. Zepsucia produktów żywnościowych wywołane przez *A. acidoterrestris*

odnotowano w różnych regionach świata, m.in. Europie, Japonii, czy USA. Izolowano je m.in. z soków i koncentratów soków owocowych, w tym: ananasowych, brzoskwiniowych, grejpfrutowych, jabłkowych, malinowych, mleczka kokosowego, pomarańczowych, pomidorowych, truskawkowych, wiśniowych, aronii, białych winogron, czarnej porzeczki, mango, marakui oraz z powierzchni surowców (gruszki, jabłka, kiwi) [Yamazaki i in., 1996; Duong i Jensen, 2000; Lee i in., 2007; McKnight i in., 2010; Bevilacqua i Corbo, 2011; Danyluk i in., 2011; Zhang i in., 2013; Tayefe i in., 2014; Ciuffreda i in., 2015; Shayanfar i in., 2015; Sokołowska i Nasilowska, 2016]. *A. acidoterrestris* znaleziono także w soku cytrynowym, czy emulsji do produkcji soków [Maldonado i in., 2008; Durak i in., 2010; Sokołowska i in., 2010].

Zanieczyszczenia produktów spożywczych wywołane bakteriami *A. acidoterrestris* są trudne do wykrycia. Bakterie te nie wytwarzają gazu, a zatem nie obserwuje się gazowania, czy też "bombażu" opakowań. Zepsuciu produktów może niekiedy towarzyszyć zmętnienie lub powstawanie białego osadu [Walker i Phillips, 2008; Chmal-Fudali i Papiewska, 2011; Kumar i in., 2013]. Najczęstszym, łatwym do wykrycia, objawem zepsucia soków przez *A. acidoterrestris* jest zmiana cech organoleptycznych wywołana wytwarzaniem związków zapachowych. W zależności od temperatury, możliwy jest także niewielki spadek pH [Witthuhn i in., 2011]. Udowodniono, że bakterie *A. acidoterrestris* wytwarzają związki lotne: 2-metoksyfenol (gwajakol) oraz halofenole: 2,6-dibromofenol (2,6-DBF) i 2,6-dichlorofenol (2,6-DCF) [Jensen i Whitfield, 2003; Gocmen i in., 2005; Bahçeci i Acar, 2007; Goto i in., 2007a; Goto i in., 2008; Walker i Phillips, 2008; Kumar i in., 2013], przy czym ilość gwajakolu przewyższa stężenie pozostałych związków zapachowych około 1000-krotnie [Kumar i in., 2013]. Zapach gwajakolu określany jest jako "słodki", "dymny", "fenolowy", bądź "medyczny". Prekursorami gwajakolu są kwas felurowy, wanilina i jej pochodne oraz tyrozyna, która naturalnie występuje w sokach jabłkowych [Walker i Phillips, 2008]. Uważa się, że ilość gwajakolu tworzonego z tyrozyny zależy od szoku cieplnego oraz warunków przechowania soków [Chang i Kang, 2004]. Ze względu na intensywny zapach i smak oraz niski próg wrażliwości sensorycznej, gwajakol jest łatwo wyczuwalny. Dla soku jabłkowego, pomarańczowego i niegazowanych napojów owocowych próg wyczuwalności węchowej gwajakolu wynosi 0,48-0,91 ppb [Eisele i Semon, 2005; Siegmund i Pöllinger-Zierler, 2006]. Próg wyczuwalności smakowej gwajakolu w tych produktach wynosi 0,24 ppb lub około 2 ppb [Pettipher i in., 1997; Eisele i Semon, 2005], podczas gdy próg rozpoznania wynosi około 2 ppb [Orr i in., 2000; Siegmund i Pöllinger-Zierler, 2006]. Gwajakol wykrywano w sokach jabłkowym, grejpfrutowym i pomarańczowym przy liczbie bakterii 10^4 - 10^5 jtk/mL [Komitopolou i in., 1999; Bahçeci i Acar, 2007]. W sokach przechowywanych w temperaturach

pokojuowych, gdzie wzrost *A. acidoterrestris* jest ograniczony, poziom gwajakolu jest znacznie niższy niż w sokach inkubowanych w temperaturach 37-46°C [Orr i in., 2000; Bahçeci i Acar, 2007; Kumar i in., 2013].

Ponadto, *A. acidoterrestris* wytwarza węglowodory halogenowe 2,6-dibromofenol (2,6-DBF) i 2,6-dichlorofenol (2,6-DCF), o znacznie niższym progu detekcji sensorycznej, a ich zapach określany jest jako "dezynfekcyjny", "szpitalny" [Young i in., 1996; Gocmen i in., 2005]. W sokach owocowych stężenie obu związków osiąga odpowiednio 2-4 ng/L oraz 16-20 ng/L, przy czym próg rozpoznawania 2,6-dichlorofenolu wynosi 20 ng/L [Jensen i Whitfield, 2003]. Niektóre szczepy mogą wytwarzać kwas 2-metylo- i 3-metylo-masłowy oraz 3-(metylotio)propionian metylu, o "serowym" i "siarkowym" zapachu, które wykrywane były w sokach ananasowych i jabłkowych [Danyluk i in., 2011].

Biofilmy *A. acidoterrestris* na powierzchniach abiotycznych

Bakterie *Alicyclobacillus* sp. są powszechnie izolowane z soków i koncentratów soków owocowych. Do przetwórci przedostają się z surowcem, po czym stwierdzono ich obecność na wszystkich etapach produkcyjnych, a często nawet w gotowych produktach. Ze względu na zdolność wytwarzania termoopornych spor stabilnych w niskim pH, pasteryzacja zwykle powoduje ich aktywację, a schłodzenie gotowych produktów do temperatur pokojowych sprzyja kiełkowaniu przetrwalników i namnażaniu komórek. Badania nad bakteriami *Alicyclobacillus* sp. obecnie koncentrują się na określeniu zdolności do tworzenia biofilmów oraz możliwości ich usuwania z linii produkcyjnych [Podolak i in., 2009; Anjos i in., 2013; Shemesh i in., 2014; Tyfa i in., 2015]. Pierwsze doniesienia o występowaniu tych bakterii na powierzchniach technicznych datowane są na rok 2009 [Podolak i in., 2009], gdzie stwierdzono zasiedlanie powierzchni stali nierdzewnej przez *A. acidoterrestris* wnoszone w formie przetrwalników. W oparciu o wyniki wcześniejszych badań [Orr i Beuchat, 2000], dokumentujących aktywność środków dezynfekcyjnych (chlor, zakwaszony chloryn sodu, nadtlenek wodoru) wobec spor *A. acidoterrestris* występujących na powierzchni jabłek, wytypowano środki chloro-pochodne ograniczające kiełkowanie przetrwalników *A. acidoterrestris* zasiedlających powierzchnię stali nierdzewnej. Stwierdzono redukcję liczby przetrwalników o 1,3-2,6 log jtk/cm² w obecności roztworu podchlorynu sodu (2000 ppm), roztworu ditlenku chloru (200 ppm) oraz komercyjnego środka dezynfekcyjnego Vortexx (nadtlenek wodoru 6,9%, kwas nadoctowy 4,4% i kwas kaprylowy 3,3%; 2600 ppm), przy krótkotrwałym (1-2 min) kontakcie powierzchni stali z dezynfektantami w temperaturach 40-90°C [Podolak i in., 2009]. Zdolność adhezji komórek *A. acidoterrestris* do powierzchni abiotycznych została potwierdzona w pracy Anjos

i in. (2013), którzy obserwowali kolonizację powierzchni stali nierdzewnej, PVC (poli(chlorku winylu)) oraz nylonu przez te acydotermofilne bakterie. Wśród testowanych roztworów komercyjnych środków dezynfekcyjnych, najsilniejsze właściwości antybiofilmowe wobec *A. acidoterrestris* wykazywały czwartorzędowe sole amoniowe. Swierdzono, że zdolność tworzenia biofilmu przez szczepy *A. acidoterrestris* jest powiązana z kwasowością środowiska [Shemesh i in., 2014]. Wraz ze spadkiem wartości pH obserwowano spadek ruchliwości komórek i intensywne przyrastanie biofilmu. Kolejnym kluczowym czynnikiem kolonizacji powierzchni przez bakterie *A. acidoterrestris* jest temperatura. Wraz ze wzrostem temperatury obserwowano zmianę optymalnych dla tworzenia biofilmu zakresów pH [Shemesh i in., 2014]. Prowadzone są również badania dotyczące adhezji środowiskowych szczepów bakterii *Alicyclobacillus* sp. izolowanych w Polsce [Tyfa i in., 2015]. Badano zdolność bakterii izolowanych ze środowisk naturalnych (z powierzchni jabłek, kory jabłoni, gleby) do adhezji do powierzchni szkła w warunkach modelowych. Pomimo, że izolaty środowiskowe wykazywały zróżnicowaną zdolność kolonizacji powierzchni szkła, tworzenie dojrzałej struktury biofilmu przez wszystkie testowane szczepy stwierdzano już po 24 godzinach hodowli. Wydłużenie czasu inkubacji sprzyjało stabilizacji biofilmu oraz uwalnianiu komórek luźno z nim związanych. Dla większości szczepów o 20,1-34,1% wyższy poziom biofilmu obserwowano w hodowlach z mieszaniem. Podjęto również próbę określenia wpływu hydrofobowości komórek bakterii na zdolność adhezji i tworzenia błon biologicznych przez *Alicyclobacillus* sp., jednakże nie stwierdzono bezpośredniej zależności pomiędzy tymi zjawiskami [Tyfa i in., 2015].

Działanie substancji pochodzenia naturalnego na *A. acidoterrestris*

Z uwagi na ograniczone dane literaturowe dotyczące tworzenia błon biologicznych przez bakterie *Alicyclobacillus* w środowiskach przemysłowych, zasadnym jest przeprowadzenie wnikliwych badań uwzględniających zdolność adhezji do materiałów technicznych, jak również poszukiwanie skutecznych i nieinwazyjnych metod eradykacji ich biofilmów. Alternatywnymi metodami walki z biofilmami bakteryjnymi w środowiskach przemysłowych jest zastosowanie substancji pochodzenia roślinnego. Olejki eteryczne lub ich komponenty stanowią naturalne źródło związków przeciwdrobnoustrojowych, przy czym, w przeciwieństwie do komercyjnych preparatów dezynfekcyjnych, mikroorganizmy nie nabywają na nie oporności. Olejki eteryczne mogą być wprowadzane w końcowych etapach produkcji przetworów owocowych, działając nie tylko stabilizująco i przeciwbiofilmowo, ale również aromatyzująco. Olejki eteryczne i ekstrakty roślinne są naturalnymi i biodegradowalnymi substancjami stosowanymi w produkcji żywności, a ich

bezpieczeństwo w dawkach akceptowanych organoleptycznie jest historycznie udokumentowane [Bakkali i in., 2008].

Publikacje dotyczące wpływu olejków eterycznych lub ich składników na rozwój bakterii *Alicyclobacillus* sp. są nieliczne. Stwierdzono zahamowanie kiełkowania przetrwalników *A. acidoterrestris* w obecności olejku cytrynowego w stężeniach 0,08-0,16%. Należy jednak pamiętać, że działanie przeciwdrobnoustrojowe olejków eterycznych warunkuje ich skład chemiczny [Maldonado i in., 2013]. Wpływ limonenu, głównego składnika olejku cytrynowego, na przeżywalność komórek i spor *A. acidoterrestris* badali także Huertas i in. (2014) oraz Bevilacqua i in. [2008b]. W obu przypadkach stosowane stężenia (odpowiednio, 3,7 mM oraz 100-500 ppm) były zbyt niskie do zahamowania wzrostu *A. acidoterrestris*. Odnotowano zmniejszenie liczby przetrwalników o 1 log jtk/mL po wprowadzeniu 0,69 mM cytralu [Huertas i in., 2014]. Skuteczność przeciw-*Alicyclobacillus* stwierdzono podczas 2,0-2,5 min ogrzewania zawiesiny przetrwalników w temperaturze 95°C w obecności mieszaniny cytralu i nizyny (0,69 mM cytralu – 0,3 mg/L nizyny; 0,34 mM cytralu – 0,3 mg/L nizyny; 0,69 mM cytralu – 1,5 mg/L nizyny) [Huertas i in., 2014]. Składniki olejku cynamonowego i goździkowego, eugenol i aldehyd cynamonowy ograniczały wzrost *A. acidoterrestris*. Efekt bójczy stwierdzono dla mieszaniny aldehydu cynamonowego i eugenolu w proporcji 20:40 ppm, a mieszanina w stężeniu dwukrotnie wyższym pozwoliła na zachowanie stabilności soku jabłkowego powyżej siedmiu dni [Bevilacqua i in., 2010].

Bakterie *A. acidoterrestris* wykazują wrażliwość na ekstrakty roślinne [Bevilacqua i in., 2013; Molva i Baysal, 2015a; Molva i Baysal, 2015b; Piskernik i in., 2016], (Tabela 1). Porównywano aktywność trzech ekstraktów: cytryny, neroli i ekstraktu z cytrusów znanych pod handlową nazwą Bicitro® (Quinabra, Probená, Hiszpania). W obecności ekstraktów w stężeniu 500 ppm, liczba przetrwalników *A. acidoterrestris* zmniejszyła się o 5 log jtk/mL. Mimo, iż dla ekstraktu Bicitro® wartości MIC wynosiły od 250 do 500 ppm, ekstrakt ten nie mógłby stanowić dodatku do soków z uwagi na zmiany organoleptyczne [Bevilacqua i in., 2013]. W obecności ekstraktu z nasion winogron odnotowano spadek liczby bakterii *A. acidoterrestris* o 3-4 log jtk/mL. Efekt bakteriostatyczny stwierdzono w matrycy soku jabłkowego z dodatkiem 0,23-3,6% tego ekstraktu po 2-tygodniowym przechowywaniu w temperaturze 37°C [Molva i Baysal, 2015a]. Również w soku jabłkowym badano działanie ekstraktu z owoców granatu na bakterie *A. acidoterrestris*. Odnotowano spadek liczby komórek wegetatywnych o 2,8-3,6 log jtk/mL przy stężeniu ekstraktów 2,5-40 µg/mL [Molva i Baysal, 2015b]. Do stabilizacji soku jabłkowego wykorzystywano również ekstrakt rozmarynowy, odnotowując zmniejszenie liczby przetrwalników *A. acidoterrestris* o 2,0-

3,5 log jtk/mL. Ponadto, ekstrakty w stężeniach MIC 7,8 µg/mL i 3,9 µg/mL, nie powodowały zmian organoleptycznych i fizykochemicznych soku [Piskernik i in., 2016].

Tabela 1. Aktywność wybranych substancji pochodzenia roślinnego wobec spor bakterii *A. acidoterrestris*

Substancja aktywna	Stężenie	Redukcja liczby spor [log (jtk/mL)]	Literatura
Aldehyd cynamonowy	40 ppm	~3,00	Bevilacqua i in., 2010
Aldehyd cynamonowy:eugenol	20:40 ppm 20:80 ppm	~3,00	
Cytral	0,34 mM	2,32	Huertas i in., 2014
	0,69 mM	2,86	
Eugenol	80 ppm	~3,00	Bevilacqua i in., 2010
Limonen	0,52 mM	0	Huertas i in., 2014
	3,70 mM	0	
Cytrynowy olejek eteryczny	0,08-0,16%	6,00	Maldonado i in., 2013
Ekstrakt cytrynowy	80 ppm	1,00	Bevilacqua i in., 2013
	160-500 ppm	4,00-5,50	
Ekstrakt neroli	500 ppm	5,00	
Bicitro ^{®*}	80 ppm	1,00	
	250-500 ppm	4,00-5,00	
Bicitro ^{®*} :ekstrakt cytrynowy	80:80 ppm	1,50-2,50	
Ekstrakt rozmarynowy	3,9-7,8 µg/mL	2,0-3,9	Piskiernik i in., 2016

*Bicitro[®] - komercyjny preparat zawierający ekstrakt z cytrusów (Quinabra, Probená, Hiszpania)

Podsumowanie

Bakterie *A. acidoterrestris* stanowią realne zagrożenie jakości mikrobiologicznej przetworów owocowych, a szczególnie soków i koncentratów. Wprowadzane z surowcem, jako naturalne elementy mikroflory owoców, te acydotermofilne bakterie są zdolne do przeżycia na wszystkich etapach produkcji i w konsekwencji zasiedlają linie technologiczne. Pomimo różnych technik stosowanych w praktyce produkcyjnej, dotychczas jedyną skuteczną metodą ich eliminacji z produktów jest filtracja. Biofilm bakterii z rodzaju *Alicyclobacillus* jest problemem dotychczas nierozpoznanym zarówno w aspekcie naukowym, jak i technologicznym. Substancje

naturalne pochodzenia roślinnego, tj. olejki eteryczne i ekstrakty roślinne, mogą nie tylko działać statycznie na te bakterie, ale również zapobiegać tworzeniu biofilmu na ostatnich etapach produkcji. Zatem, oprócz funkcji konserwacji, mogłyby stanowić czynnik prewencyjny zapobiegający tworzeniu biofilmów *Alicyclobacillus*.

Literatura

1. Albuquerque L., Rainey F.A., Chung A.P., Sunna A., Nobre M.F., Grote R., Antranikian G., Da Costa M.S. (2000). *Alicyclobacillus hesperidum* sp. nov. and a related genomic species from solfataric soils of Sao Miguel in the Azores. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 50, 451-457.
2. Anjos M.M., Ruiz S.P., Nakamura C.V., de Abreu Filho B.A. (2013). Resistance of *Alicyclobacillus acidoterrestris* spores and biofilm to industrial sanitizers. *Journal of Food Protection*, 76, 1408-1413.
3. Bahçeci K.S., Acar J. (2007). Determination of guaiacol produced by *Alicyclobacillus acidoterrestris* in apple juice by using HPLC and spectrophotometric methods, and mathematical modeling of guaiacol production. *European Food Research and Technology*, 225, 873-878.
4. Bevilacqua A., Sinigaglia M., Corbo M.R. (2008). *Alicyclobacillus acidoterrestris*: new methods for inhibiting spore germination. *International Journal of Food Microbiology*, 125, 103-110.
5. Bevilacqua A., Corbo M.R., Sinigaglia M. (2010). Combining eugenol and cinnamaldehyde to control the growth of *Alicyclobacillus acidoterrestris*. *Food Control*, 21, 172-177.
6. Bevilacqua A., Corbo M.R., Campaniello D., D'Amato D., Gallo M., Speranza B., Sinigaglia M. (2011). Shelf life prolongation of fruit juices through essential oils and homogenization: a review. *Science against Microbial Pathogens: Communicating Current Research and Technological Advances*, 2, 1157-1166.
7. Bevilacqua A., Corbo M.R. (2011). Characterization of wild strain of *Alicyclobacillus acidoterrestris*: heat resistance and implications for tomato juice. *Journal of Food Science*, 76, M130-M136.
8. Bevilacqua A., Campaniello D., Speranza B., Sinigaglia M., Corbo M.R. (2013). Control of *Alicyclobacillus acidoterrestris* in apple juice by citrus extracts and a mild heat-treatment. *Food Control*, 31, 553-559.
9. Cerny G., Hennlich W., Poralla K. (1984). Fruchtsaftverderb durch Bacillen: Isolierung und Charakterisierung des Verderbserregers. *Zeitschrift Für Lebensmittel-Untersuchung Und -Forschung*, 179, 224-227.
10. Chang S., Kang D.H. (2005). Development of novel *Alicyclobacillus* spp. isolation medium. *Journal of Applied Microbiology*, 99, 1051-1060.
11. Chmal-Fudali E., Papiewska A. (2011). The possibility of thermal inactivation of *Alicyclobacillus acidoterrestris* spores in fruit and vegetable juices. *Biotechnology and Food Science*, 75, 87-96.
12. Ciuffreda E., Bevilacqua A., Sinigaglia M., Corbo M. (2015). *Alicyclobacillus* spp.: new insights on ecology and preserving food quality through new approaches. *Microorganisms*, 3, 625-640.
13. Danyluk M.D., Friedrich L.M., Jouquand C., Goodrich-Schneider R., Parish M.E., Rouseff R. (2011). Prevalence, concentration, spoilage, and mitigation of *Alicyclobacillus* spp. in tropical and subtropical fruit juice concentrates. *Food Microbiology*, 28, 472-477.
14. Deinhard G., Blanz P., Poralla K., Altan E. (1987). *Bacillus acidoterrestris* sp. nov., a new thermotolerant acidophile isolated from different soils. *Systematic and Applied Microbiology*, 10, 47-53.
15. Duong H.A., Jensen N. (2000). Spoilage of iced tea by *Alicyclobacillus*. *Food Australia*, 52, 292.
16. Durak H.A., Churey J.J., Danyluk M.D., Worobo R.W. (2010). Identification and haplotype distribution of *Alicyclobacillus* spp. from different juices and beverages. *International Journal of Food Microbiology*, 142, 286-291.
17. Eisele T., Semon M.J. (2005). Best estimated aroma and taste detection threshold for guaiacol in water and apple juice. *Journal of Food Science*, 70, S267-S269.
18. Gocmen D., Elston A., Williams T., Parish M., Rouseff R.L. (2005). Identification of medicinal off-flavours generated by *Alicyclobacillus* species in orange juice using GC-olfactometry and GC-MS. *Letters in Applied Microbiology*, 40, 172-177.
19. Goto K., Mochida K., Asahara M., Suzuki M., Kasai H., Yokota A. (2003). *Alicyclobacillus pomorum* sp. nov., a novel thermo-acidophilic, endospore-forming bacterium that does not possess ω -alicyclic

- fatty acids, and emended description of the genus *Alicyclobacillus*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 53, 1537-1544.
20. Goto K., Nishibori A., Wasada Y., Furuhashi K., Fukuyama M., Hara M. (2008). Identification of thermo-acidophilic bacteria isolated from the soil of several Japanese fruit orchards. *Letters in Applied Microbiology*, 46, 289-294.
 21. Goto K., Tanaka T., Yamamoto R., Tokuda H. (2007). Characteristics of *Alicyclobacillus*, w: *Alicyclobacillus Thermophilic Acidophilic Bacilli* (red. A. Yokota, T. Fujii, K. Goto), Springer, 9-48.
 22. Groenewald W.H., Gouws P.A., Witthuhn R.C. (2008). Isolation and identification of species of *Alicyclobacillus* from orchard soil in the Western Cape, South Africa. *Extremophiles*, 12, 159-163.
 23. Groenewald W.H., Gouws P.A., Witthuhn R.C. (2009). Isolation, identification and typification of *Alicyclobacillus acidoterrestris* and *Alicyclobacillus acidocaldarius* strains from orchard soil and the fruit processing environment in South Africa. *Food Microbiology*, 26, 71-76.
 24. Huertas J.P., Esteban M.D., Antolinos V., Palop A. (2014). Combined effect of natural antimicrobials and thermal treatments on *Alicyclobacillus acidoterrestris* spores. *Food Control*, 35, 73-78.
 25. Imperio T., Viti C., Marri L. (2008). *Alicyclobacillus pohliae* sp. nov., a thermophilic endospore-forming bacterium isolated from geothermal soil of the north-west slope of Mount Melbourne (Antarctica). *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 58, 221-225.
 26. Jensen N., Whitfield F.B. (2003). Role of *Alicyclobacillus acidoterrestris* in the development of a disinfectant taint in shelf-stable fruit juice. *Letters in Applied Microbiology*, 36, 9-14.
 27. Komitopoulou E., Boziaris I.S., Davies E.A., Delves-Broughton J., Adams M.R. (1999). *Alicyclobacillus acidoterrestris* in fruit juices and its control by nisin. *International Journal of Food Science and Technology*, 34, 81-85.
 28. Kumar R., Bawa A.S., Kathiravan T., Nadasabapathi S. (2013). Inactivation of *Alicyclobacillus acidoterrestris* by non thermal processing technologies - a review. *International Journal of Advanced Research*, 1, 386-395.
 29. Lee S.Y., Chang S.S., Shin J.H., Kang D.H. (2007). Membrane filtration method for enumeration and isolation of *Alicyclobacillus* spp. from apple juice. *Letters in Applied Microbiology*, 45, 540-546.
 30. Maldonado M.C., Aban M.P., Navarro A.R. (2013). Chemicals and lemon essential oil effect on *Alicyclobacillus acidoterrestris* viability. *Brazilian Journal of Microbiology*, 44, 1133-1137.
 31. Maldonado M.C., Belfiore C., Navarro A.R. (2008). Temperature, soluble solids and pH effect on *Alicyclobacillus acidoterrestris* viability in lemon juice concentrate. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 35, 141-144.
 32. Matsubara H., Goto K., Matsumura T., Mochida K., Iwaki M., Niwa M., Yamasato K. (2002). *Alicyclobacillus acidiphilus* sp. nov., a novel thermo-acidophilic, ω -alicyclic fatty acid-containing bacterium isolated from acidic beverages. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 52, 1681-1685.
 33. McKnight I.C., Eiroa M.N.U., Sant'Ana A.S., Massagué P.R. (2010). *Alicyclobacillus acidoterrestris* in pasteurized exotic Brazilian fruit juices: isolation, genotypic characterization and heat resistance. *Food Microbiology*, 27, 1016-1022.
 34. Molva C., Baysal A.H. (2015a). Antimicrobial activity of grape seed extract on *Alicyclobacillus acidoterrestris* DSM 3922 vegetative cells and spores in apple juice. *Food Science and Technology*, 60, 238-245.
 35. Molva C., Baysal A.H. (2015b). Evaluation of bioactivity of pomegranate fruit extract against *Alicyclobacillus acidoterrestris* DSM 3922 vegetative cells and spores in apple juice. *Food Science and Technology*, 62, 989-995.
 36. Orr R.V., Beuchat L.R. (2000). Efficacy of disinfectants in killing spores of *Alicyclobacillus acidoterrestris* and performance of media for supporting colony development by survivors. *Journal of Food Protection*, 63, 1117-1122.
 37. Orr R.V., Shewfelt R., Huang C.J., Beuchat L.R. (2000). Detection of guaiacol produced by *Alicyclobacillus acidoterrestris* in apple juice by sensory and chromatographic analyses, and comparison with spore and vegetative cell populations. *Journal of Food Protection*, 63, 1517-1522.
 38. Pettipher G.L., Osmundson M.E., Murphy J.M. (1997). Methods for the detection and enumeration of *Alicyclobacillus acidoterrestris* and investigation of growth and production of taint in fruit juice and fruit juice-containing drinks. *Letters in Applied Microbiology*, 24, 185-189.
 39. Piskernik S., Klančnik A., Demšar L., Smole Možina S., Jeršek B. (2016). Control of *Alicyclobacillus* spp. vegetative cells and spores in apple juice with rosemary extracts. *Food Control*, 60, 205-214.

40. Podolak R., Elliott P.H., Taylor B.J., Khurana A., Black D.G. (2009). Destruction of *Alicyclobacillus acidoterrestris* spores in apple juice on stainless steel surfaces by chemical disinfectants. *Journal of Food Protection*, 72, 510-514.
41. Previdi M.P., Colla F., Vicini E. (1995). Characterization of *Alicyclobacillus*, a spore forming thermophilic acidophilic bacterium. *Industria Conserve*, 70, 128-132.
42. Shayanfar S., Harzman C., Pillai S.D. (2015). Fruit juice and puree characteristics influence enrichment requirements for real-time PCR detection of *Alicyclobacillus acidoterrestris*. *International Journal of Food Contamination*, 2, 1-6.
43. Shemesh M., Pasvolsky R., Zakin V. (2014). External pH is a cue for the behavioral switch that determines surface motility and biofilm formation of *Alicyclobacillus acidoterrestris*. *Journal of Food Protection*, 77, 1418-1423.
44. Siegmung B., Pöllinger-Zierler B. (2006). Odor threshold of microbially induced off-flavor compounds in apple juice. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54, 5984-5989.
45. Sokołowska B., Niezgoda J., Dekowska A., Porębska I., Nasiłowska J., Waldon-Wiewióra E., Kowalska M. (2016). Incidence of *Alicyclobacillus* spp. in Polish apple and dark berry juice concentrates and the ability of isolated *A. acidoterrestris* strains to spoilage of these juices. *Postępy Nauki i Technologii Przemysłu Rolno-Spożywczego*, 71, 5-20.
46. Sokołowska B., Niezgoda J., Bytońska M., Frankiel A. (2010). Bioróżnorodność szczepów *Alicyclobacillus acidoterrestris*. *Prace Instytutów i Laboratoriów Badawczych Przemysłu Spożywczego*, 65, 29-38.
47. Tayefe M., Zade A.N., Asl M.S., Hashemi S.A. (2014). Isolation of *Alicyclobacillus acidoterrestris* from commercial spoiled apple juice and study on some influence parameters on its growth in apple juice. *Biological Forum - an International Journal*, 6, 41-45.
48. Tyfa A., Kunicka-Styczyńska A., Zabielska J. (2015). Evaluation of hydrophobicity and quantitative analysis of biofilm formation by *Alicyclobacillus* sp. *Acta Biochimica Polonica*, 62, 785-790.
49. Walker M., Phillips C.A. (2008). *Alicyclobacillus acidoterrestris*: an increasing threat to the fruit juice industry? *International Journal of Food Science and Technology*, 43, 250-260.
50. Wisotzkey J.D., Jurtshuk P., Fox G.E., Deinhard G., Poralla K. (1992). Comparative sequence analyses on the 16S rRNA (rDNA) of *Bacillus acidocaldarius*, *Bacillus acidoterrestris*, and *Bacillus cycloheptanicus* and proposal for creation of a new genus, *Alicyclobacillus* gen. nov. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 42, 263-269.
51. Witthuhn R.C., Smit Y., Cameron M., Venter P. (2011). Isolation of *Alicyclobacillus* and the influence of different growth parameters. *International Journal of Food Microbiology*, 146, 63-68.
52. Yamazaki K., Teduka H., Shinano H. (1996). Isolation and identification of *Alicyclobacillus acidoterrestris* from acidic beverages. *Bioscience Biotechnology and Biochemistry*, 60, 543-545.
53. Young W.F., Horth H., Crane R., Ogden T., Arnott M. (1996). Taste and odour threshold concentrations of potential potable water contaminants. *Water Research*, 30, 331-340.

MAŁGORZATA MAKAREWICZ¹, IWONA DROŹDŹ¹, DAGMARA SOBCZAK¹,
PAWEŁ SATORA¹

¹*Katedra Technologii Fermentacji i Mikrobiologii Technicznej, Wydział Technologii Żywności,
Uniwersytet Rolniczy im. Hugona Kołłątaja w Krakowie*

STABILNOŚĆ MIKROBIOLOGICZNA NIEPASTERYZOWANYCH SOKÓW OWOCOWYCH Z DODATKIEM PRODUKTÓW PSZCZELICH

Wprowadzenie

Sok jabłkowy, ze względu na swoje właściwości zdrowotne, staje się coraz częściej wybieranym produktem spożywczym, zarówno w Polsce, jak i na świecie. W związku z narastającą popularnością ekologicznych jabłek, dąży się do propagowania tego surowca, jednocześnie uświadamiając konsumentów o prozdrowotnym wpływie jego składników na organizm. Istotnym jest przede wszystkim, ich działanie przeciwtleniające, ponieważ w obecnych czasach trudno o dobre źródło antyoksydantów opóźniających procesy starzenia, niwelujących powstawanie wielu chorób oraz poprawiających ogólne samopoczucie [Boyer i Liu, 2004; Załeczka i in., 2013]. Jednak naturalne związki bioaktywne, polifenole czy flawonoidy, obecne w jabłkach, są często dezaktywowane w trakcie obróbki technologicznej. Z tego względu producenci coraz częściej odchodzą od standardowych metod utrwalania soków, co z kolei związane jest z problemem utraty trwałości. Soki owocowe bogate są w mikroflorę, która znajduje się na powierzchni owoców, dlatego podatne są na szybkie psucie, głównie za sprawą bakterii, fermentujących drożdży oraz pleśni, co przynosi duże straty ekonomiczne w przemyśle spożywczym. Źródłem bakterii i grzybów na powierzchni owoców są między innymi powietrze, gleba i woda.

Autochtoniczną mikroflorę gleby stanowią chemoorganotrofy reprezentowane przez rodzaje: *Bacteroides*, *Bacillus*, *Enterobacter*, *Escherichia*, *Flavobacterium*, *Micrococcus*, *Leuconostoc*, *Legionella*. Do saprofitycznej mikroflory powietrza zalicza się: ziarniaki z rodzaju *Micrococcus*, gronkowce białe, pałeczki *Alcaligenes* oraz tlenowe laseczki przetrwalnikujące z rodzaju *Bacillus*. Dodatkowo owoce mogą być skażone przez owady, ptaki lub podczas zbioru, przeładunku, transportu oraz obróbki poprzez kontakt z pracownikami, czy urządzeniami służącymi do produkcji. Stąd najczęściej występujące rodzaje bakterii niepatogenicznych dla roślin, lecz typowo ludzkich patogenów to: *Shigella*, *Salmonella sp.*, *Campylobacter spp.*, *Escherichia coli*, *Bacillus cereus*, *Clostridium botulinum*, *Yersinia enterocolitica*, *Listeria monocytogenes*. Patogeny te, mogą być groźne dla zdrowia ludzi, mimo, że nie wpływają na jakość produktu, stwierdzono przypadki zatrucia po spożyciu świeżych, niepasteryzowanych soków, szczególnie u dzieci i młodzieży [Gorny, 2006; Rybaudi-Massilia i in., 2009; Aneja i in., 2014].

Grzyby strzępkowe wywołują ok. 85% chorób roślin. Źródłem zakażeń jest, podobnie jak w przypadku bakterii, środowisko, tj. woda, powietrze i gleba, przy czym stężenie zarodników w tych ośrodkach jest zmienne i zależne od pory roku, wilgotności, wysokości nad poziomem morza. Spośród grzybów pleśniowych naturalną i zarazem chorobotwórczą mikroflorę owoców i soków stanowią: *Penicillium* (*P. expansum*, *P. crustosum*, *P. solitum*), *Monilia* (*M. laxa*, *M. fructigena*, *M. fructicola*), *Botrytis* (*B. cinerea*), *Rhizopus* (*R. stolonifer*), *Alternaria* (*A. alternata*), *Fusarium* (*F. avenaceum*, *F. culmorum*, *F. oxysporum*), *Aspergillus* sp., *Eurotium* sp., *Pezizula* sp., *Venturia* sp., *Trichotecium* sp., *Phytophthora* sp. Na powierzchni owoców obecne są również drożdże z rodzajów: *Saccharomyces*, *Zygosaccharomyces*, *Hanseniaspora*, *Candida*, *Debaryomyces* i *Pichia* [Karaman i in., 2016]. Wiele spośród patogenów grzybowych wytwarza mikotoksyny, związki będące metabolitami wtórnymi, niebezpiecznymi dla zdrowia konsumentów [Gorny, 2006]. Pomimo selekcji surowca i odrzucenia owoców z wyraźnymi objawami porostu pleśni, toksyny pochodzenia grzybowego są nadal wykrywane w sokach.

Dlatego aktualnie duży nacisk kładzie się na poszukiwanie naturalnych dodatków, które mogą wpływać na poprawę stabilności mikrobiologicznej soków, zachowując przy tym ich walory prozdrowotne, bezpieczeństwo i świeżość. Najbardziej przyjazną dla konsumentów ścieżką poprawy jakości produktów, jest wdrożenie rozwiązań naturalnych, dzięki którym produkt zyska nowe, cenne właściwości odżywcze. Produkty pszczele mogą być alternatywą dla związków syntetycznych, źródłem pożądaných przeciwutleniaczy, substancji, których organizm potrzebuje do prawidłowego funkcjonowania. Propolis, pierzga, mleczko pszczele oraz pyłek kwiatowy były niedoceniane przez wiele lat, jednak coraz częściej zyskują na atrakcyjności dzięki swoim oddziaływaniom na ludzki organizm. Produkty te zawierają m.in. szereg witamin, biopierwiastków, kwasów organicznych, związków biologicznie aktywnych, czy też wysokowartościowego białka oraz węglowodanów [Campos i in., 2010; Bankova i in., 2014].

Nie ma wątpliwości, że stosowanie chemicznych konserwantów negatywnie wpływa na zdrowie. Naukowcy w swych badaniach często odnoszą się do produktów pszczelich w walce z drobnoustrojami, uzyskując tym samym pozytywne efekty. Pszczoły stworzyły swój indywidualny system obronny w walce z niepożądanymi drobnoustrojami, dlatego też firmy biotechnologiczne coraz częściej starają się powtórzyć ten naturalny schemat. Można przypuszczać, że łącząc oba surowce, sok jabłkowy i produkty pszczele, uda się stworzyć pełnowartościowy produkt, funkcjonalny oraz samowystarczalny.

Celem przeprowadzonych badań była ocena stabilności mikrobiologicznej handlowych, niepasteryzowanych soków jabłkowych wzbogaconych w miód pszczeli z dodatkiem propolisu, pierzgi, mleczka pszczelego oraz pyłku kwiatowego. Przyczyną podjętych badań jest dążenie do wzbogacenia żywności w produkty o bogatym składzie

odżywczym, będącymi jednocześnie naturalnymi konserwantami i wykazującymi działanie przeciwdrobnoustrojowe.

Materiały i metody

Głównym materiałem przeprowadzonych badań był handlowy sok jabłkowy niepasteryzowany, naturalnie mętny. Producent charakteryzuje produkt jako sok surowy, o naturalnej barwie soku jabłkowego, niesłodzony, wytworzony ze świeżo umytych jabłek. Sok jabłkowy, nie poddany żadnym zabiegom konserwującym, charakteryzował się 4 dniowym terminem przydatności do spożycia po otwarciu oraz przechowywaniu w warunkach chłodniczych.

Zakupione u producenta produkty pszczele przechowywano w oryginalnych opakowaniach (250 g) w ciemności, w warunkach chłodniczych (4°C). Każdy z produktów oznaczono następująco:

P1: Propolis w miodzie (1%) – (Bartnik Sądecki, woj. małopolskie). Produkt charakteryzował się balsamiczno-kremową konsystencją, jasnobrązową barwą o przyjemnym zapachu miodu.

P2: Pierzga plombowana miodem – (Pasięka Dębowa, woj. pomorskie). Produkt o kwaśnym smaku, grudkowatej konsystencji, koloru ciemnobrązowego.

P3: Naturalny pyłek kwiatowy w miodzie (10%) – (Bartnik Sądecki, woj. małopolskie). Produkt o konsystencji lepkiej i płynnej w kolorze beżowym.

P4: Mleczko pszczele w miodzie (0,8%) – (Bartnik Sądecki, woj. małopolskie). Produkt o aksamitnej, kremowej konsystencji oraz beżowej barwie. Smak cierpki, delikatnie kwaśny.

Przygotowanie roztworów produktów pszczelich i soku jabłkowego

Zawartość jednostkowego opakowania soku jabłkowego o pojemności 250 cm³ rozlano do trzech jałowych probówek po 50 cm³ w każdej. Produkty badano w trzech powtórzeniach dla każdego ze stężeń, odpowiednio:

K – sok jabłkowy bez dodatku produktu pszczelego (kontrola),

P (1,2,3,4) 2% – sok jabłkowy z dodatkiem produktu pszczelego w stężeniu 2% obj.

P (1,2,3,4) 4% – sok jabłkowy z dodatkiem produktu pszczelego w stężeniu 4% obj.

Przygotowane próby przechowywano w ciemności, w temperaturze 4°C przez 96 h. Bezpośrednio po sporządzeniu roztworów, wykonywano posiewy w kierunku określenia ogólnej liczby bakterii tlenowych, bakterii kwaszących oraz ogólnej liczby pleśni i drożdży. Posiewy wykonywano również po 1, 2, 3 i 6 dobie przechowywania.

Oznaczenie ogólnej liczby drobnoustrojów

W celu namnożenia odpowiedniej grupy mikroorganizmów wykorzystano trzy rodzaje pożywek hodowlanych o różnym składzie. Do oznaczania ogólnej liczby bakterii stosowano bulion odżywczy (Nutrient-Broth, BIOCORP), celem namnażania bakterii

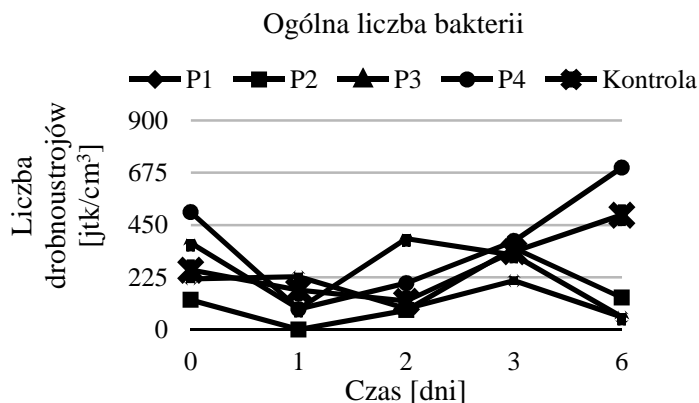
kwaszących użyto podłoże MRS (BIOCORP). Do określenia ogólnej liczby pleśni i drożdży zastosowano pożywkę Sabouraud Dextrose z chloramfenikolem (BIOCORP). Podłoża przygotowywano odmierzając określoną ilość proszku hodowlanego do wody destylowanej, zestalając agarem laboratoryjnym (LAB-Agar, BIOCORP). Podłoża poddawano jałowieniu w autoklawie (121°C, 30 min). Tak przygotowane pożywki rozlewano na jałowe płytki Petriego.

Wszystkie posiewy wykonano metodą powierzchniową w trzech powtórzeniach. Jałową pipetą pobierano 0,5 cm³ badanego roztworu, następnie rozprowadzano inokulum na powierzchni podłoża jałową głaszczką. Płytki inkubowano w temperaturze 36°C przez 24 h. Ogólną liczbę mikroorganizmów oznaczano poprzez zliczenie wyrosłych kolonii na podłożach. W tym celu wykorzystano licznik kolonii bakterii LKB 2002. Uzyskane wyniki wyrażano w postaci liczby jednostek tworzących kolonie w 1cm³ soku jabłkowego (jtk/cm³).

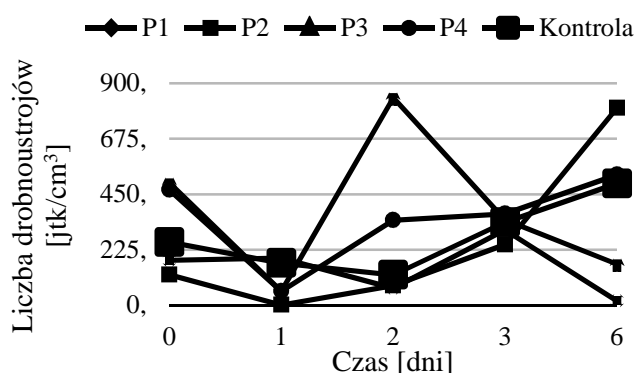
Wstępną diagnostykę mikrobiologiczną przeprowadzono poprzez obserwację preparatów mikroskopowych (mikroskop badawczy Nikon Eclipse E 100). Kolonie bakteryjne rosnące na szalkach zróżnicowano pod względem fenotypowym, następnie wykonano preparaty utrwalone barwione metodą Grama. Pleśnie i drożdże identyfikowano makroskopowo oraz mikroskopowo stosując metodę preparatów przyżyciowych, barwionych płynem Lugola lub błękitem metylenowym.

Wyniki

Ocena stabilności mikrobiologicznej produktów



Ryc. 1A. Wzrost bakterii w soku jabłkowym z dodatkiem produktów pszczelich w stężeniu 2% obj.



Ryc. 1B. Wzrost bakterii w soku jabłkowym z dodatkiem produktów pszczelich w stężeniu 4% obj.

Na podstawie uzyskanych wyników można stwierdzić, że kontrola charakteryzowała się stopniowym wzrostem bakterii w ciągu 6 dni badań, jednak po 2 dniu przechowywania zauważono znaczący wzrost liczby drobnoustrojów. Istotnym jest spadek liczebności bakterii w produkcie z dodatkiem propolisu (P1) po 6 dniu przechowywania o 89% w stosunku do kontroli, w przeciwieństwie do P4 (mleczko pszczele), gdzie zauważono stymulujący wpływ na wzrost drobnoustrojów o 41%. Tendencja wzrostowa liczby bakterii w produkcie czwartym utrzymywała się jednakowo od pierwszego dnia przechowywania. Produkt 2, z dodatkiem pierzgi, wykazywał największą skuteczność w pierwszych dwóch dniach, ostatecznie zauważono intensywne zahamowanie wzrostu bakterii po 6 dobie (o 73% w stosunku do kontroli).

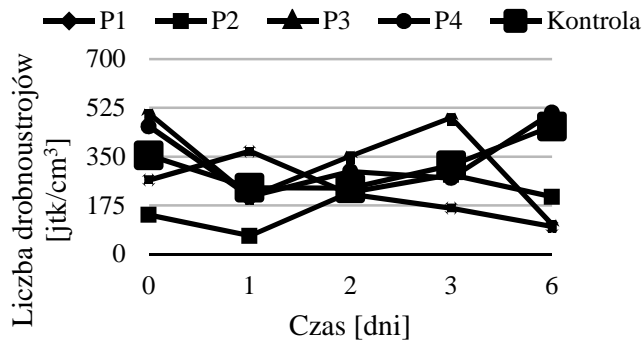
Dodatek P3 (pyłek kwiatowy) spowodował sześciokrotny wzrost liczby bakterii w 2 dobie przechowywania w stosunku do próby kontrolnej (ryc. 1B). Po 3 dobie nastąpił znaczny spadek drobnoustrojów, osiągając liczbę zbliżoną do kontroli, natomiast ostatecznie po 6 dobie, produkt przyczynił się do zahamowania wzrostu bakterii o 66% poniżej kontroli. Dodatek propolisu (P1) do soku jabłkowego wykazywał podobną korelację rozwoju mikroorganizmów z kontrolą, jednak po 3 dobie przechowywania zauważono niemal całkowite zahamowanie wzrostu bakterii. Sok wzbogacony dodatkiem pierzgi w ilości 4%, charakteryzował się najniższym rozwojem drobnoustrojów w trakcie pierwszych dwóch dni przechowywania (odpowiednio o 52% oraz 99% zahamowania w odniesieniu do kontroli), natomiast w 6 dobie osiągnął największy przyrost bakterii w stosunku do wszystkich produktów.

Tendencja wzrostowa liczby drobnoustrojów utrzymywała się na podobnym poziomie w soku z dodatkiem produktu 1 (propolis) odpowiednio we wszystkich dniach przechowywania prób, jednak dodatek 4% spowodował znaczne zwiększenie liczby bakterii w 3 dobie przechowywania (ryc. 1B). Należy zwrócić uwagę, że dodatek ten

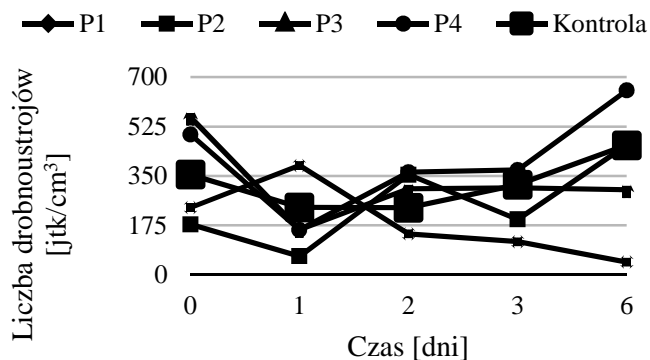
osiągnął największą skuteczność w zahamowaniu rozwoju mikroflory w odniesieniu do wszystkich produktów. Podobna tendencja występowała w produkcie 3 (pyłek kwiatowy), jednak dodatek 4% znacznie stymulował wzrost, głównie zauważalny po 2 dniu przechowywania (ryc. 1B).

Ogólna liczba bakterii kwaszących

Największą aktywność przeciwbakteryjną wykazał produkt 2 (pierzga) w stężeniu 2% po 1 dobie przechowywania, jednak tendencja ta z czasem przechowywania malała (ryc. 2A). Najsilniejszy spadek liczebności mikroflory kwaszącej uzyskano w produkcie z dodatkiem propolisu (P1), gdzie od 2 doby odnotowano inaktywację bakterii,



Ryc. 2A. Wzrost bakterii kwaszących w soku jabłkowym z dodatkiem produktów pszczelich w stężeniu 2% obj.



Ryc. 2B. Wzrost bakterii kwaszących w soku jabłkowym z dodatkiem produktów pszczelich w stężeniu 4% obj.

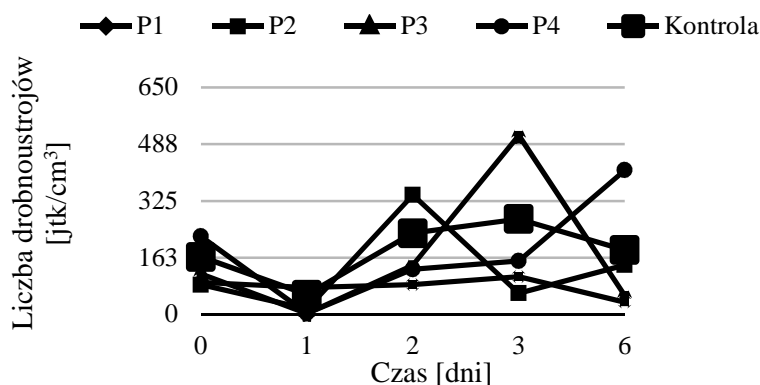
osiągając ostatecznie czterokrotny spadek liczebności w odniesieniu do soku bez dodatków. Produkt 3 (pyłek kwiatowy) charakteryzował się znaczącym przyrostem liczby drobnoustrojów w 3 dobie (53% powyżej kontroli), natomiast w 6 dniu przechowywania prób, zauważono 5-krotne zahamowanie rozwoju bakterii.

W przypadku 4% zawartości produktu pszczelego (ryc. 2B), znaczący spadek liczebności badanych drobnoustrojów odnotowano dla produktu 1 (propolis), który wykazywał najlepszą skuteczność przeciwko bakteriom kwaszującym (10-krotny spadek liczby bakterii w 6 dniu), powodując niemal całkowitą ich eliminację. Wzbogacenie soku jabłkowego dawką 4% mlecza pszczelego (P4) skutkowało stymulacją rozwoju drobnoustrojów już po 2 dobie, w ostatnim dniu przechowywania odnotowano o 42% większą liczbę bakterii w produkcie. Wyższe stężenie produktu 1 w soku jabłkowym (ryc. 2B) przyczyniło się do znaczącej inaktywacji bakterii w stosunku do 2% stężenia. W pozostałych produktach, większa ilość dodatku pszczelego wpłynęła stymulująco na rozwój mikroflory.

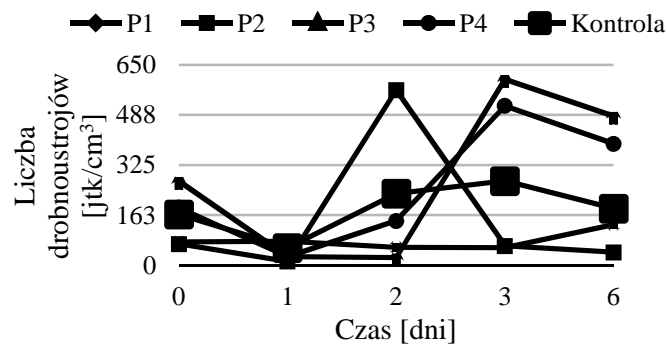
Ogólna liczba drożdży

Wzrost drożdży w próbie z dodatkiem propolisu (P1), utrzymywał się na stałym poziomie do 3 doby przechowywania, potem nastąpiła wyraźna ich inaktywacja. Produkt ten, dodany w ilości 2% do soku jabłkowego, charakteryzował się najsilniej hamującym wpływem na wzrost mikroflory w badanych napojach.

Kinetyka wzrostu drobnoustrojów w soku z dodatkiem produktu 2 (pierzga) była najbardziej zróżnicowana w każdej dobie. Trzeci dzień przechowywania prób spowodował spadek liczebności drożdży w P2 o 78% w stosunku do kontroli. Stabilizujący wpływ na rozwój drobnoustrojów zauważono w produkcie z dodatkiem mlecza pszczelego (P4), jednak tendencja ta uległa zmianie w 3 dobie, przyczyniając się do dwukrotnego przyrostu drobnoustrojów w odniesieniu do kontroli.



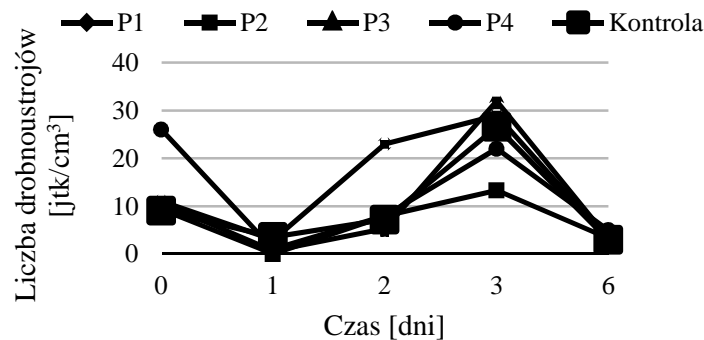
Ryc. 3A. Wzrost drożdży w soku jabłkowym z dodatkiem produktów pszczelich w stężeniu 2% obj.



Ryc. 3B. Wzrost drożdży w soku jabłkowym z dodatkiem produktów pszczelich w stężeniu 4% obj.

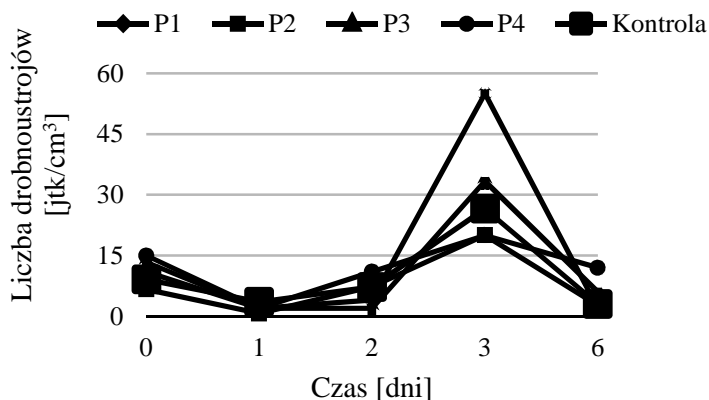
Należy zwrócić uwagę, że 4% dodatek produktów pszczelich P3 i P4 wykazał stymulujący wpływ na mikroflorę, powodując prawie dwukrotny przyrost liczby drożdży (ryc. 3B). Początkowo, dodatek wymienionych wyżej produktów, spowodował spadek liczby drobnoustrojów, następnie obserwowano tendencję wzrostową. Wyraźny wzrost odnotowano także w soku z dodatkiem P2 (pierzga) po drugiej dobie przechowywania, jednak w kolejnym dniu nastąpiła znaczna redukcja liczby drobnoustrojów, ostatecznie przyczyniając się do najsilniejszego zahamowania rozwoju drożdży spośród wszystkich badanych prób (78% mniej mikroflory w stosunku do kontroli).

Ogólna liczba pleśni



Ryc. 4A. Wzrost pleśni w soku jabłkowym z dodatkiem produktów pszczelich w stężeniu 2% obj.

Na przedstawionym wykresie (ryc. 4A) można zaobserwować, że początkowo liczebność komórek grzybów pleśniowych w sokach wzbogaconych w P1, P2, P3 oraz w kontroli,



Ryc. 4B. Wzrost pleśni w soku jabłkowym z dodatkiem produktów pszczelich w stężeniu 4% obj.

kształtowała się na podobnym poziomie. W przypadku dodatku P1 (propolis) zaobserwowano gwałtowny wzrost liczby jednostek tworzących kolonie w 2 dobie, jednak w 6 dniu przechowywania liczba omawianych drobnoustrojów we wszystkich badanych próbach kształtowała się na tym samym poziomie. W trzeciej dobie badania, gdzie liczebność pleśni, we wszystkich próbach, osiągnęła najwyższy poziom, odnotowano najlepszy efekt fungistyczny w soku z dodatkiem pierzgi (P2) (dwukrotnie mniejsza liczebność w odniesieniu do kontroli). Należy zwrócić uwagę, że najwięcej pleśni wyizolowano z soku wzbogaconego produktem 4 (mleczko pszczele) po 1 dobie przechowywania, liczebność była wyższa o 66% w stosunku do napoju kontrolnego.

Wszystkie produkty dodane w ilości 4% prezentowały zbliżone do siebie wartości liczby pleśni w początkowej fazie badania (ryc. 4B). Następnie odnotowano niewielką tendencję spadkową liczby pleśni w próbach po pierwszej dobie przechowywania.

Natomiast, w trzeciej dobie, nastąpił największy przyrost liczby pleśni. Liczebność populacji osiągnęła w tym czasie najwyższą wartość w soku z dodatkiem produktu P1. Jednak po kolejnej dobie nastąpiło silne zredukowanie liczebności. Porównując produkty o mniejszej (2%) i większej (4%) zawartości pożytków pszczelich w soku jabłkowym można stwierdzić większe zahamowanie liczby pleśni dla prób zawierających mniejsze stężenie. Produkt z dodatkiem 2% propolisu, wykazał najbardziej hamujący efekt na rozwój pleśni. Wzbogacanie soków większą dawką produktów korelowało ze wzrostem liczby pleśni w badanych próbach.

Identyfikacja mikroorganizmów

Wyroste kolonie zróżnicowano pod kątem cech morfologicznych (rozmiar i kształt kolonii, brzeg, powierzchnia, przejrzystość, barwa plechy grzybów strzępkowych, typy wzrostu).

Główną mikroflorę badanych soków jabłkowych z dodatkiem produktów pszczelich stanowiły bakterie. Kolonie bakteryjne zazwyczaj były małe, o równym brzegu oraz gładkiej, niekiedy ziarnistej powierzchni. Zaobserwowano zarówno matowe, jak i błyszczące kolonie, o lekkim wzniesieniu ponad powierzchnię podłoża.

Barwa kolonii bakterii na podłożach hodowlanych była zróżnicowana (kolonie białe, beżowe, kremowe, żółte). W badanych próbach dominowały bakterie Gram-ujemne. Zarówno bakterie Gram-ujemne jak i Gram-dodatnie przyjmowały regularny kształt owalny lub cylindryczny charakterystyczny odpowiednio dla ziarniaków lub pałeczek. W przypadku bakterii Gram-dodatnich, zauważono, iż komórki tworzyły skupiska charakterystyczne dla gronkowców oraz paciorkowców.

Jednokomórkowe drożdże, występujące w badanych produktach, przyjmowały najczęściej kształt kulisty. Ponadto zidentyfikowano także drożdże o kształcie cylindrycznym. Kolonie na szalkach Petriego przyjmowały kształt okrągły, rzadziej owalny oraz nieregularny, najczęściej barwy białej lub kremowej. Kolonie charakteryzowały się lekkim wzniesieniem ponad powierzchnię podłoża.

Wśród grzybów strzępkowych najczęściej obserwowano gatunki z rodzaju *Aspergillus*. Pleśnie te charakteryzowały się rozgałęzionymi strzępkami, tworząc kolonie o różnym zabarwieniu. Podczas obserwacji, odnotowano wyraźne zaznaczone liczne strzępki zarodnikonośne wyrastające ku górze, zakończone kolumellą w kształcie charakterystycznie zaznaczonej okrągłej główki. Żółta powierzchnia kolonii wskazuje najprawdopodobniej na gatunek *A. versicolor*, natomiast biała plecha przechodząca w brązowy – *A. terreus*.

Pleśnie z rodzaju *Penicillium* odznaczały się przede wszystkim szarozielonym nalotem występującym na strzępkach dzięki łańcuszkom konidiów powstałym na szczycie konidioforów. Pleśnie *Alternaria* tworzyły na powierzchni ciemnoszarą, wełnowatą grzybnię, o dużych charakterystycznych, wielokomorowych konidiach. Grzyby pleśniowe z rodzaju *Mucor* sklasyfikowano poprzez długotrwałą makroskopową obserwację grzybni. Początkowo grzybnia przyjmowała biały kolor z licznie występującymi sporangioforami. Po upływie czasu odnotowano charakterystyczny szary kolor pleśni.

Natomiast niskie i delikatne kolonie pleśni o białym zabarwieniu należały prawdopodobnie do rodzaju *Geotrichum*.

Dyskusja

W ostatnich latach soki jabłkowe zyskały na popularności głównie ze względu na swoje właściwości zdrowotne oraz orzeźwiający smak. Odchodząc od standardowych metod pasteryzacji, powodujących wyraźne zmiany sensoryczne produktu, naukowcy próbują odnaleźć nowe rozwiązania dla zabezpieczenia mętnych soków przed szkodliwą mikroflorą [Lu i in., 2010].

Charakter inaktywacji zależy w dużym stopniu od konkretnych produktów o działaniu przeciwdrobnoustrojowym, a także rodzaju, gatunku i szczepu mikroorganizmu docelowego. Ważnym jest poznanie specyficznych cech fizykochemicznych żywności oraz analiza ilościowa i jakościowa składników bioaktywnych. Jednym z takich komponentów jest zawartość kwasów organicznych wpływających na stężenie jonów wodorowych, warunkujących z kolei wzrost i przeżycie mikroorganizmów. Bakterie preferują pH bliskie neutralnego tj. od 6.5 do 7.5, jednak zakres tolerowany wynosi od 4 do 9 [Rosa i in., 2009]. Odczyn badanych soków jabłkowych wynosił około 3,5, tak więc można zaliczyć je do produktów względnie ograniczających wzrost drobnoustrojów. Skutecznym sposobem przedłużenia trwałości produktu jest dodatek zakwaszający lub zwiększenie procesów naturalnej fermentacji mlekowej. Produktem pszczelim o najwyższej kwasowości jest pierzga w miodzie, będąca naturalnie zafermentowanym pyłkiem kwiatowym. Korelacja ta została potwierdzona w badaniu, dając dwukrotnie mniejszą liczbę bakterii w produkcie z dodatkiem pierzgi, w stosunku do kontroli, podczas pierwszych trzech dni przechowywania (ryc. 1A), natomiast 4% stężenie wykazało jedynie ograniczenie wzrostu. Inne badania przeprowadzone z dodatkiem propolisu wykazują działanie bakteriostatyczne lub w niektórych przypadkach nawet bakteriobójcze. Wykazano silne hamowanie bakterii Gram-dodatnich i drożdży, natomiast brak inhibicji bakterii Gram-ujemnych. Sugeruje się także wydzielanie substancji antagonistycznych przez *Escherichia coli* oraz *Pseudomonas aeruginosa* przeciwko *Staphylococcus aureus*. Takie działania mogą być efektem rywalizacji o ograniczone zasoby odżywcze. W jednym z badań odnotowano silne działanie antybakteryjne propolisu bułgarskiego przeciwko *Salmonella*, a także efekt synergistyczny z klarytromycyną skutkujący zahamowaniem wzrostu *Helicobacter pylori* [Machan i in., 1991]. Mechanizm aktywności propolisu opiera się głównie na obecności składników bioaktywnych takich jak fenole oraz flawonoidy [Bankova i in., 2014]. Stwierdzono, że propolis wnika w błonę cytoplazmatyczną drobnoustrojów, hamuje ich ruchliwość, a także zmniejsza aktywność enzymów bakteryjnych, inaktywując podział komórek oraz syntezę białka [Mirzoeva i in., 1997]. Skład chemiczny propolisu zmienia się w zależności od pochodzenia geograficznego. Austriacki propolis wykazał hamujący wpływ wobec *S. aureus* i *E. coli*, natomiast propolis zebrany w Arabii Saudyjskiej

wykazał silniejszy wpływ na inaktywację tych bakterii po zmieszaniu go z miodem [Al-Waili, 2012].

W przeprowadzonym aktualnie doświadczeniu stwierdzono większą liczbę komórek bakteryjnych w porównaniu do drożdży i pleśni. Prawdopodobną przyczyną tego zjawiska jest ich zdolność do adaptacji w niskim pH i regulowaniu homeostazy. Bakterie wytwarzają enzymy wpływające na zwiększenie ich wewnętrznego pH, aktywując naprawę DNA i białek [Aneja i in., 2014]. Mikroflorę soków jabłkowych tworzyły zarówno bakterie Gram-dodatnie, jak i Gram-ujemne. Stwierdzono zróżnicowanie pod względem morfologicznym (pałeczki, ziarniaki) oraz częste występowanie w skupiskach. Dominującą grupę stanowiły bakterie Gram-ujemne. Produktem stymulującym wzrost bakterii był sok jabłkowy z dodatkiem pyłku pszczelego w ilości 4% (ryc. 1B). Może to być powiązane z faktem, iż wysuszony pyłek kwiatowy traci swą zdolność antyoksydacyjną, przy czym przechowywany w temperaturze pokojowej, traci nawet do 50% mocy utleniającej w ciągu roku [Campos i in., 2010]. Udowodniono wysokie zahamowanie wzrostu w próbie z dodatkiem propolisu (P1) 2%, jednakże w wyższym stężeniu doszło do całkowitej inaktywacji bakterii w ostatniej dobie przechowywania (ryc. 1B).

Często pojawiająca się tendencja rozwoju drobnoustrojów jest silnie skorelowana z fazami wzrostu komórek. W pierwszych dwóch dobach przechowywania notowano spadek mikroflory obecnej w świeżych produktach, spowodowane to być może fazą adaptacyjną do nowych warunków środowiskowych. Trzecia doba przechowywania charakteryzowała się silnym wzrostem w postępie logarytmicznym, kiedy komórki są młode i żywotne. Drożdże osiągnęły najszybszy wzrost w próbie z dodatkiem pierzgi w miodzie już po dwóch dniach przechowywania. Silnie skorelowaną grupą drobnoustrojów są pleśnie, osiągając wspólnie w trzeciej dobie najwyższą tendencję wzrostową.

Do najczęściej spotykanych bakterii w sokach owocowych należą gatunki: *Bacillus*, *Acetobacter*, *Clostridium*, *Leuconostoc*, *Gluconobacter*, *Zymomonas*, *Zymobacter*. Mimo, iż większość z nich nie rozwija się w kwaśnym środowisku, w publikacjach naukowych opisano gatunki tolerujące niskie pH oraz wysokie natlenienie (*Gluconobacter*). Bakterie z rodzaju *Clostridium*, *Bacillus*, *Alicyclobacillus* wytwarzają przetrwalniki i są dzięki temu odporne na działanie wysokich temperatur, dlatego ich obecność spodziewana jest również w pasteryzowanych sokach [Huang i in., 2015]. Stwierdzono także wzrost tych bakterii w próbach o pH od 3,0 do 6,0 [Huang, 2014]. Przyczyną skażenia soków owocowych mogą być również drożdże. Silny wzrost drożdży notuje się w produktach kwaśnych. Przyjmują one także zdolność wzrostu w warunkach beztlenowych. Wykazano, że niepasteryzowane soki owocowe mogą być zakażone drożdżami z rodzajów *Saccharomyces* i *Zygosaccharomyces*, *Candida*, *Bretanomyces*, *Dekkera* oraz

Torulasporea, powodującymi zmętnienie oraz nieprzyjemny posmak na skutek wydzielenia dwutlenku węgla [Karaman i in., 2016]. Spośród rodzaju *Saccharomyces* notuje się występowanie gatunków: *Saccharomyces bailii*, *S. bayanus*, *S. bisphorus*, *S. cerevisiae*, *S. rouxii*. Analiza makroskopowa, w niniejszym doświadczeniu, wykazała różnorodny kształt komórek drożdżowych. Niektóre z nich, przyjęły formę strzępkową, a kolonie charakteryzowały się lekkim wzniesieniem ponad powierzchnię podłoża. Na podstawie wymienionych, cech można przypuszczać, że należały do rodzaju *Candida*, często bytującego w świeżo wyciśniętych sokach. Główną przyczyną psucia żywności spowodowanej przez drożdże jest aktywacja esteraz pektynowych obniżających zawartość pektyn, ostatecznie – niepożądane brązowienie soków jabłkowych [Stratford i in., 2000; Gialleli, 2016].

Dominującą mikroflorę, badanych soków jabłkowych, w przypadku grzybów strzępkowych stanowiły pleśnie z rodzajów *Penicillium*, *Aspergillus*, *Atleternaria*, *Geotrichum* oraz *Mucor*, powodujące zatechły zapach oraz potencjalną możliwość wytwarzania niebezpiecznych dla zdrowia ludzkiego metabolitów (mykotoksyn). Zidentyfikowane pleśnie występują powszechnie w środowisku naturalnym (woda, gleba, powietrze, szczątki roślinne), rozwijają się w szerokim przedziale pH (2-8,5) oraz temperatury (<0-60°C) [Kwaśna, 2007]. Stwierdzono, że zarodniki *Cladosporium* są najczęściej występującymi składnikami powietrza na całym świecie. Mimo, iż optymalna temperatura ich wzrostu znajduje się w zakresie 18-28°C, notuje się ich rozwój także w temperaturze 6°C [Grinn-Gafroń, 2014]. W pomieszczeniach dominują głównie rodzaje *Penicillium* i *Aspergillus*. W przypadku wielu grzybów strzępkowych wykazano wzrost w warunkach silnie tlenowych, jednak występują również takie, które do rozwoju w produktach spożywczych na bazie owoców potrzebują niewielkich ilości tlenu, sięgających 0,1% [Beuchat, 1998].

W przypadku skomercjalizowanych produktów istotna jest kontrola nad składnikami uczuleniowymi takimi jak np. kwas cynamonowy występujący w produktach pszczelich [Miguel, 2011]. W obecnych czasach produkty powinny spełniać kilka funkcji: od zaspokajania głodu, poprawy zdrowia, sił witalnych, samopoczucia po konieczność dostarczania niezbędnych składników odżywczych. Konsumenci oczekują produktów, które nie tylko będą bogate w składniki bioaktywne, ale także zapewnią zdrowie, siłę i kompleksową naturalną suplementację. Ludźmi kieruje przede wszystkim chęć poprawy jakości życia w późniejszych latach oraz zwiększające się koszty na opiekę zdrowotną. Żywność funkcjonalna staje się coraz bardziej powszechnym obszarem badań i innowacji w dziedzinie żywności, na co wskazuje tendencja wzrostowa zainteresowania wśród naukowców od 2007 roku. Coraz częstszym problemem cywilizacyjnym staje się także wzrost oporności drobnoustrojów na antybiotyki. Naukowcy dowodzą obecności ponad 20 tysięcy genów oporności przeciw infekcjom grzybowym, pasożytniczym, bakteryjnym

oraz wirusowym [Liu i in., 2009]. Istotne jest więc prowadzenie badań w kierunku aktywności przeciwdrobnoustrojowych z wykorzystaniem surowców naturalnych.

Główną zaletą produktów pszczelich jest ich różnorodność prozdrowotna, która może być także wykorzystana w produktach spożywczych. Odnotowano m.in. ich hamujące działanie w procesach brązowienia jabłek lub przy wspomaganiu klaryfikacji soków [Schmidt, 1997]. Dodatkowym atutem tych produktów jest wzbogacenie odżywcze, gwarantujące dostarczenie zapotrzebowania w mikroelementy. Produkty pszczele mogą stać się najlepszym wyborem, jako prozdrowotne dodatki żywnościowe pośród innych, syntetycznych czy modyfikowanych genetycznie. Porównując przeciwdrobnoustrojowe działanie produktów, odnotowano najslabszy wpływ pyłku kwiatowego, który jest najmniej przetworzoną przez pszczoły substancją, zapewniającą im przede wszystkim źródło pożywienia. Z kolei propolis, ma za zadanie głównie chronić przed niechcianymi patogenami. Należy mieć na uwadze, iż skład chemiczny produktów pszczelich w dużej mierze zależy od regionu geograficznego. W zależności od obecnych w nich związków biologicznie aktywnych, produkty pszczele mogą mieć istotne znaczenie przy terapii wielu różnorodnych schorzeń, w procesach technologicznych, jako suplement diety lub też mogą działać przeciwdrobnoustrojowo.

Wnioski

1. Na podstawie wykonanych analiz badań stwierdzono zróżnicowany wpływ produktów pszczelich na rozwój drobnoustrojów znajdujących się w niepasteryzowanym soku jabłkowym.
2. Dodatek do soku mieszaniny miodu z propolisem oraz miodu z pierzgą miał działanie bakteriobójcze i przeciwgrzybiczne.
3. Zastosowanie produktów pszczelich w stężeniu 2% daje lepszy efekt hamujący wzrost drobnoustrojów niż stężenie 4%.
4. Mikroflora badanych soków jabłkowych była różnorodna, ale charakterystyczna dla tego rodzaju produktów. Dominującą mikroflorę stanowiły bakterie Gram-ujemne i grzyby pleśniowe z rodzajów *Penicillium*, *Aspergillus* i *Alternaria*.
5. Wprowadzenie wybranych dodatków pszczelich do soku jabłkowego może stanowić skuteczną i prozdrowotną metodę zmniejszenia liczby drobnoustrojów, a tym samym przedłużenia trwałości surowego produktu.

Projekt został sfinansowany ze środków MNiSW przyznanych na podstawie decyzji nr DS - 3706/KTFiMT/17

Literatura

1. Al-Waili N. (2012). Synergistic effects of honey and propolis toward drug multi-resistant *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* and *Candida albicans* isolates in single and polymicrobial cultures. *International Journal of Medical Sciences*, 793-800.

2. Aneja K.R., Dhiman R., Aggarwal N.K., Kumar V., Kaur M. (2014). Microbes associated with freshly prepared juices of citrus and carrots. *International Journal of Food Science*, <http://dx.doi.org/10.1155/2014/408085>.
3. Bankova V., Popova M., Trusheva B. (2014). Propolis volatile compounds: chemical diversity and biological activity: a review. *Chemistry Central Journal*, 8-28.
4. Beuchat L.R. (1998). Spoilage of acid products by heat-resistant molds. *Dairy, Food, and Environmental Sanitation*, 18, 588-593.
5. Boyer J., Liu R.H. (2004). Apple phytochemicals and their health benefits. *Nutrition Journal*, 3(5), 1-15.
6. Campos M., Frigerio C., Lopes J., Bogdanov S. (2010). What is the future of Bee-Pollen? *Journal of ApiProduct and ApiMedical Science*, 2(4), 131-144.
7. Gialleli A., Bekatorou A., Kanellaki M., Nigam P., Athanasios A. Koutinas A. (2016). Apple juice preservation through microbial adsorption by nano/ micro-tubular cellulose. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 33, 416-421.
8. Gorny J. (2006). Microbial contamination of fruits and vegetables. *Microbiology of Fruits and Vegetables*, 2-31.
9. Grinn-Gofroń A., Lipiec A., Myszkowska D., Ziemianin M., Szymańska A., Nowak M. (2014). Zarodniki *Cladosporium* w powietrzu wybranych miast Polski w 2014 r. *Alergoprofil*, 10(4), 32-34.
10. Huang X., Yuan Y., Guo C., Gekas V., Yue T. (2015). *Alicyclobacillus* in the fruit juice industry: spoilage, detection, and prevention/control. *Food Reviews International*, 31(2), 91-124.
11. Huang S., Zhang C., Wang K., Li G., Hu L. (2014). Recent advances in the chemical composition of propolis. *Molecules*, 19, 19610-19632.
12. Karaman K., Sağdıç O., Yılmaz M.T. (2016). Multiple response surface optimization for effects of processing parameters on physicochemical and bioactive properties of apple juice inoculated with *Zygosaccharomyces rouxii* and *Zygosaccharomyces bailii*. *Food Science and Technology*, 69, 258-272.
13. Liu B., Pop M. (2009). ARDB—Antibiotic Resistance Genes Database. *Nucleic Acids Research*, 37, 443-447.
14. Lu G., Li C., Liu P., Cui H., Xia Y., Wang J. (2010). Inactivation of microorganisms in apple juice using an ultraviolet silica-fiber optical device. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 100, 167-172.
15. Machan Z., Pitt T., White W. (1991). Interaction between *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus*: description of an anti-staphylococcal substance. *Journal of Medical Microbiology*, 34, 213-217.
16. Miguel M., Antunes M. (2011). Is propolis safe as an alternative medicine? *Journal of Pharmacy and Bioallied Sciences*, 3, 479-495.
17. Mirzoeva O., Grishanin R., Calder P. (1997). Antimicrobial action of propolis and some of its components: the effects on growth, membrane potential and motility of bacteria. *Microbiological Research*, 152, 239-246.
18. Raybaudi-Massilia R.M., Mosqueda-Melgar J., Soliva-Fortuny R., Martín-Belloso O. (2009). Control of pathogenic and spoilage microorganisms in fresh-cut fruits and fruit juices by traditional and alternative natural antimicrobials. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 8, 3, 157-180.
19. Schmidt J.O. (1997). Bee products: Chemical composition and application. [W:] *Bee Products: Properties, Applications and Apitherapy*. Red. A. Mizrahi, Y. Lensky. Wyd. Plenum Press, New York, 15-26.
20. Stratford M., Hofman P.D., Cole M.B. (2000). Fruit juices, fruit drinks and soft drinks. *The Microbiological Safety and Quality of Food*, 836-869.
21. Załecka A., Hallmann E., Rembiałkowska E. (2013). The content of bioactive compounds in new created fruit juices from organic production. *Journal of Research and Applications in Agricultural Engineering*, 58, 4, 242-245.

ALEKSANDRA DUDA-CHODAK¹, TOMASZ TARKO¹,
KATARZYNA PETKA¹, KATARZYNA WÓJCIK¹

¹*Katedra Technologii Fermentacji i Mikrobiologii Technicznej, Wydział Technologii Żywności,
Uniwersytet Rolniczy w Krakowie*

WPŁYW WYBRANYCH ZIÓŁ I PREPARATÓW ZIOŁOWYCH NA BAKTERIE PROBIOTYCZNE

Wprowadzenie

Fizjologiczną mikrobiotę jelitową człowieka stanowi ok. 10^{14} mikroorganizmów. Jej skład zależy m.in. od wieku, regionu geograficznego, sposobu porodu i karmienia w okresie niemowlęctwa, diety oraz przyjmowanych antybiotyków i innych leków [Dzierżanowska, 2009]. Do bakterii najliczniej zasiedlających układ pokarmowy człowieka zalicza się przedstawiciele typów *Firmicutes*, *Bacteroidetes* i *Actinobacteria*, ale w jelitach znajdują się również bakterie należące do *Proteobacteria*, *Verrucomicrobia*, *Fusobacteria* i *Spirochaetes*. Należy podkreślić, że niemal 80% obecnych w przewodzie pokarmowym gatunków stanowią mikroorganizmy „niehodowlane”, charakteryzujące się dużą zmiennością gatunków i liczebności pomiędzy poszczególnymi osobnikami [Nowak i Libudzisz, 2008; Olszewska i in., 2012].

Fizjologiczna mikrobiota jelitowa pełni ważną rolę we właściwym funkcjonowaniu organizmu ludzkiego, w szczególności przewodu pokarmowego i układu immunologicznego. Od dawna wiadomo, że prawidłowa mikrobiota przewodu pokarmowego odgrywa rolę w metabolizmie węglowodanów nieprzyswajalnych w inny sposób, takich jak arabinoza, celuloza, pektyny czy hemiceluloza [Radwan i in., 2009]. Bakterie jelitowe produkują niektóre witaminy niezbędne dla człowieka: K, B₁₂, B₁, B₆ oraz kwas foliowy [Olszewska i in., 2012]. Biorą również udział w odnowie nabłonka jelitowego i modulowaniu układu odpornościowego [Górska i in., 2009]. Szczepy bakterii żyjących w przewodzie pokarmowym o korzystnym wpływie na organizm człowieka uznajemy za bakterie probiotyczne. Nie mogą one powodować żadnych skutków ubocznych, powinny także wykazywać odporność na enzymy trawienne, kwas żołądkowy i żółć oraz być zdolne do adhezji do ścian jelit, dzięki czemu unikają wyłukania z organizmu [Górska i in., 2009; Nowak i in., 2010].

Każde zaburzenie delikatnej równowagi w składzie gatunkowym i ilościowym mikrobioty (tzw. dysbioza) może skutkować niepożądanymi objawami, co zaobserwować można np. w postaci biegunek po terapii antybiotykowej. Z tego powodu ważne jest by w trakcie i po kuracji wprowadzać do organizmu probiotyki oraz przyjmować pokarmy lub stosować preparaty wspomagające rozwój prawidłowej mikrobioty jelitowej [Nowak i Libudzisz, 2008].

Napary ziołowe często są używane przez pacjentów w celu wyleczenia rozmaitych dolegliwości lub jako leczenie wspomagające i uzupełniające w różnych schorzeniach, w tym układu pokarmowego, krążenia czy wydalniczego. Ekstrakty z niektórych ziół znalazły również zastosowanie w leczeniu chorób wywoływanych przez patogenne szczepy bakterii, będąc alternatywą dla terapii antybiotykowej. Oznacza to, że zioła i ich preparaty oprócz właściwości przeciwbólowych, przeciwzapalnych, moczopędnych itd. mogą też działać bakteriobójczo, co z kolei może mieć negatywny wpływ na fizjologiczną mikrobiotę organizmu.

Celem pracy było sprawdzenie czy zioła i preparaty ziołowe dostępne w sklepach lub aptekach i stosowane w leczeniu różnych dolegliwości mają wpływ na wzrost probiotycznych szczepów bakterii.

Material i metody

Material badawczy

Do badań wykorzystano dostępne w aptekach i sklepach zielarskich zioła oraz jedno- lub wieloskładnikowe preparaty ziołowe, z których przygotowano napary, zgodnie z przepisem podanym na opakowaniu przez producenta/dystrybutora (Tab. 1). Po zaparzeniu, napary poddano sterylizacji poprzez filtrację (filtr 0,45 µm).

Tabela 1. Sposób wykonania naparów ziołowych

Nazwa preparatu	Producent	Liczba torebek ziół (masa suszu)	Objętość wody [ml]	Czas zaparzania naparu [min]
Pokrzywa	Herbapol	2 (3 g)	250	10
Skrzyp	Herbapol	2 (3,6 g)	250	15
„Verdin fix”	USP Zdrowie	1 (1,8 g)	250	10
Senes	Herbapol	1 (1,0 g)	200	10
Mięta	Herbapol	1 (2,0 g)	125	10
Morwa	Kawon-Hurt	1 (2,0 g)	250	15
Szałwia	Herbapol	2 (2,4 g)	125	15
„Figura detox”	Herbapol	1 (2,0 g)	250	5
Rumianek	Herbapol	1 (3,0 g)	200	5

Bakterie użyte do badań to probiotyczne szczepy bakterii kwasu mlekowego *Lactobacillus casei* LC-1 oraz *Lactobacillus acidophilus* LA-5 (Chr. Hansen, Dania). Po rozbankowaniu bakterie namnażano i hodowano w płynnej pożywce MRS przez 24 godziny w temperaturze 37°C, w warunkach mikroaerofilowych.

Metodyka

Sterylnie płynne podłoże MRS zawierające napary poszczególnych preparatów w stężeniu 5% (obj.) zaszczepiono 0,1 ml gęstwy bakteryjnej przygotowanej tak, by wyjściowe stężenie bakterii w hodowli wynosiło 3×10^6 komórek/ml. Za pomocą densytometru, wyskalowanego w jednostkach McFarlanda, zmierzono gęstość optyczną przygotowanych hodowli, po czym próby inkubowano przez 24 h w 37°C. Po tym czasie ponownie zmierzono gęstość optyczną podłoża, a liczebność bakterii wyrażano jako procent kontroli pozytywnej, tzn. liczebności bakterii w medium bez żadnego dodatku. W celu wyeliminowania wpływu dodatku naparu na gęstość optyczną medium, wartość odpowiedniego tła (pomiar w czasie 0 h) odejmowano każdorazowo od wyniku.

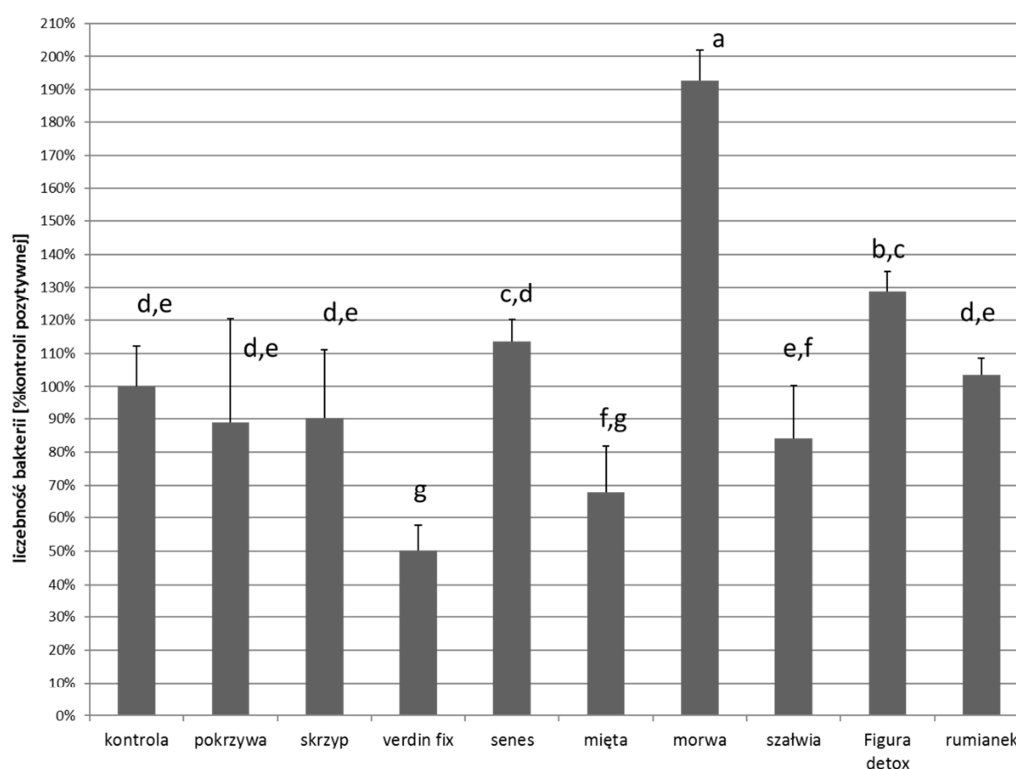
Każdy posiew wykonano w minimum 3 powtórzeniach, a gęstość optyczną podłoża mierzono 3-krotnie. Wyniki podano jako średnią arytmetyczną \pm odchylenie standardowe. Analizę statystyczną przeprowadzono w programie InStat, wersja 3.01 (na wykresach jednakowe litery obok słupków oznaczają brak istotnych statystycznie różnic między średnimi).

Wyniki i dyskusja

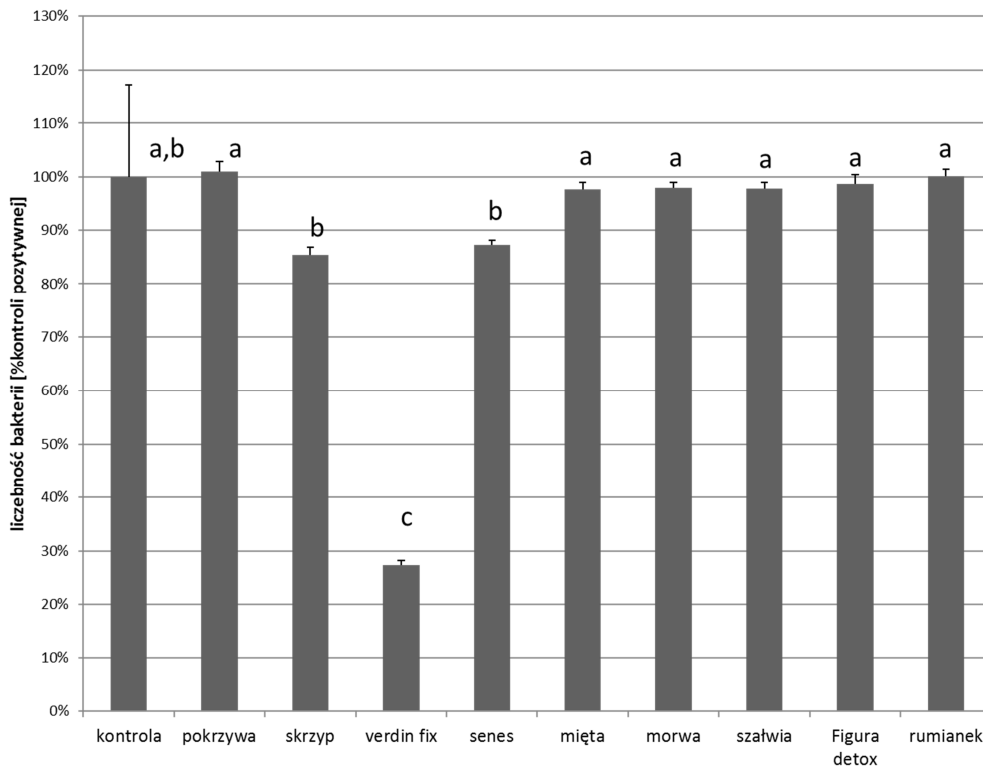
Uzyskane wyniki wskazują, że większość badanych preparatów ziołowych nie wpłynęła w sposób istotny statystycznie na wzrost *Lactobacillus casei* LC-1 (rys. 1) oraz *Lactobacillus acidophilus* LA-5 (rys. 2). Jedynie herbatka „Verdin fix” hamowała wzrost obydwu badanych bakterii – *L. acidophilus* LA-5 o ponad 70%, a *L. casei* LC-1 o połowę. Wobec *L. casei* LC-1 bakteriostatycznie działał także napar z mięty, powodując zmniejszenie liczebności o 32% w porównaniu z kontrolą. Nie wykazano natomiast takiego wpływu wobec *L. acidophilus* LA-5, na który nieznacznie bakteriostatycznie działały napary ze skrzypu i senesu. Należy zaznaczyć, że napar z morwy działał stymulująco na wzrost *L. casei* LC-1 powodując niemal podwojenie liczebności tej bakterii w odniesieniu do kontroli. Preparatem ziołowym, który również pobudzał wzrost szczepu LC-1 była „Figura detox”, jednak jego wpływ był znacznie słabszy niż naparu z morwy.

„Verdin fix” to herbatka zawierająca mieszaninę kilku ziół wspomagających trawienie: ziele mięty pieprzowej, owoce kolendry siewnej, kminku zwyczajnego i dzikiej róży, liście palczatki cytrynowej i herbaty zielonej oraz korzenie lukrecji gładkiej i mniszka lekarskiego. Kolendra siewna korzystnie wpływa na rozkład tłuszczów oraz

pomaga w utrzymaniu równowagi gazowej w przewodzie pokarmowym. Kminek jest środkiem przeciwskurczowym oraz wiatropędnym, stymuluje wydzielanie soków trawiennych i usuwa wzdęcia. Ziele mięty wspomaga prawidłową pracę żołądka, a dzika róża ma ogólnie korzystny wpływ na organizm i prawidłowe funkcjonowanie układu trawiennego. Zielona herbata ma pozytywny wpływ na serce i układ odpornościowy, wspomaga również spalanie tłuszczów i ogranicza apetyt, dzięki czemu pomaga w utrzymaniu odpowiedniej wagi masy ciała. Lukrecja wspomaga pracę błon śluzowych jelit i żołądka, zaś mniszek lekarski ma właściwości prebiotyczne i pomaga w utrzymaniu odpowiedniego pH żołądka. Mimo tak złożonego składu, deklarowanego działania prozdrowotnego i potencjalnych właściwości prebiotycznych, napar z tej herbatki powodował zahamowanie wzrostu bakterii probiotycznych, co może w dłuższej perspektywie czasu powodować niekorzystne skutki dla konsumenta.



Rys. 1. Liczebność bakterii *Lactobacillus casei* LC-1 po 24 h inkubacji w podłożu MRS zawierającym dodatek naparów ziołowych w stężeniu 5%



Rys. 2. Liczebność bakterii *Lactobacillus acidophilus* LA-5 po 24 h inkubacji w podłożu MRS zawierającym dodatek naparów ziołowych w stężeniu 5%

Z danych literaturowych wynika, że składnikami ziół, które działają antybakteryjnie są głównie olejki eteryczne oraz związki polifenolowe.

W olejkach eterycznych mięty znajdują się m.in. mentol i menton, które uważane są za główne składniki o działaniu bakteriostatycznym wobec *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* i *Escherichia coli*. Etanolowy ekstrakt mięty pieprzowej zawiera dużo mniejsze ilości składników aktywnych pod względem antybakteryjnym, przez co słabiej hamuje wzrost mikroorganizmów. Wykazuje jednak bakteriostatyczne właściwości w stosunku do *Staphylococcus aureus* [Adaszyńska i in., 2013]. Olejki eteryczne z *Mentha piperita* hamują wzrost *Propionibacterium acnes* i *P. granulosum*. Udowodniono, że Gram-dodatnie bakterie beztlenowe są bardziej wrażliwe na olejki eteryczne mięty niż drobnoustroje Gram-ujemne [Kędzia, 2007]. Ponieważ jednak w przeprowadzonych badaniach napar z samej mięty działał słabiej niż „Verdin fix”, należy przypuszczać, że także pozostałe składniki ziołowe tej mieszanki mają działanie przeciwbakteryjne, także względem badanych probiotyków. Wiadomo, że kolendra wykazuje aktywność bakteriostatyczną wobec *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus*

haemolyticus, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* i *Proteus vulgaris* [Kozłowska i Ziarno, 2012]. Właściwości te wynikają z obecności w jej tkankach takich związków jak tymol, *p*-cymen-8-ol i karwakrol. W skład „Verdin fix” wchodzi również zielona herbata. Metanolowy wyciąg z *Camellia sinensis* wykazywał właściwości bakteriostatyczne wobec *Streptococcus mutans* [Stańczyk i in., 2008]. Z kolei, wyciąg z liści zielonej herbaty hamował wzrost *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Vibrio cholerae*, *Vibrio mimicus* i *Campylobacter jejuni* [Kania i Baraniak, 2011].

Skrzyp, który działał bakteriostatycznie na *L. acidophilus* LA-5 jest znany ze swojego działania hamującego także wobec patogennych gatunków. Ekstrakt ze skrzypu polnego wykazuje właściwości przeciwbakteryjne wobec *Staphylococcus aureus*, *S. epidermidis*, *Streptococcus sobrinus*, *Str. mutans* i *Lactobacillus casei* [De Oliveira i in., 2013; Ferrazzano i in., 2013].

Senes, czyli inaczej strączyńiec, jest rośliną o działaniu przeczyszczającym i żółciopędnym [Paguigan i in. 2014]. Jego właściwości wynikają z obecności glikozydów, które po spożyciu są aktywowane przez mikrobiotę jelitową i bezpośrednio oddziałują z błoną śluzową jelita, pobudzają perystaltykę jelit oraz hamują wchłanianie wody i elektrolitów. Choć zaobserwowane działanie senesu nie było istotne statystycznie to należy pamiętać, że badania robiono w warunkach *in vitro*, natomiast w warunkach *in vivo*, na liczebność mikroorganizmów bytujących w jelicie wpłynie także aktywność przeczyszczająca tego zioła.

W przeprowadzonych badaniach wykazano, że napar z szałwi powodował nieznaczne (nieistotne statystycznie) zmniejszenie liczebności bakterii *L. casei* LC-1 (rys. 1). Naukowcy ze Słowacji wykazali, że olejki eteryczne pozyskane z szaławii lekarskiej działają bakteriostatycznie w stosunku do opornych na metycylinę szczepów *Staphylococcus aureus*, który wywołuje m.in. schorzenia układu oddechowego, moczowo-płciowego, układu nerwowego i skóry [Samet i in., 2003; Chovanova i in., 2013; Snowden i in., 2014]. W trakcie 4-godzinnej destylacji udało się wyekstrahować z szaławii i zidentyfikować m.in. 1,8-cyneol, β -tujony, kamforę, borneol i *p*-cymen – związki, które uważa się za odpowiedzialne za bakteriostatyczne właściwości olejków eterycznych szaławii [Chovanova i in., 2013]. Antybakteryjne działanie alkoholowych ekstraktów z szaławii potwierdzono także wobec drobnoustrojów powodujących choroby zębów i jamy ustnej, takich jak *Streptococcus mutans*, *Lactobacillus rhamnosus* i *Actinomyces viscosus* [Hamidpour i in., 2014]. Szałwia hamuje także wzrost *Staphylococcus epidermidis* i *Corynebacterium*, które powodują powstawanie nieprzyjemnego zapachu potu [Shahtalebi i in., 2013]. Udowodniono również, że wodne ekstrakty z *Salvia officinalis* hamują wzrost *Bacillus mycoides*, *B. subtilis*, *Enterobacter cloacae* i *Proteus* sp., dzięki czemu mogą

być wykorzystywane jako alternatywa dla antybiotyków i konserwantów spożywczych [Hamidpour i in., 2014].

W przeprowadzonych badaniach nie wykazano hamującego działania naparu z rumianku wobec probiotycznych szczepów bakterii, jednak jego działanie inhibitorowe zostało już udowodnione względem kilku patogenów: glikolowy ekstrakt z rumianku hamuje wzrost *E. coli*, *S. aureus* i *P. aeruginosa* [Herman i in., 2014], a olejki eteryczne z rumianku działają bakteriostatyczne wobec *Micrococcus flavus*, *B. subtilis* oraz *S. epidermidis* [Soković i in., 2010]. Za właściwości bakteriobójcze olejku z rumianku pospolitego względem *S. aureus* odpowiedzialne są przede wszystkim α -bisabolol i chamazulen [Zielińska-Pisklak i Szeleszczuk, 2013].

Należy podkreślić, że dane literaturowe wykazujące bakteriostatyczne lub bakteriobójcze działanie ziół zwykle opierają się o badania przeprowadzane na ekstraktach alkoholowych lub przygotowanych z użyciem rozpuszczalników organicznych. Wiele ze związków bioaktywnych można wyekstrahować tylko przy użyciu takich rozpuszczalników albo poprzez destylację. Używane w pracy napary zostały wykonane zgodnie z przepisami podanymi na opakowaniu, z wykorzystaniem wody, a czas parzenia herbat był stosunkowo krótki, co mogło spowodować niedostateczną ekstrakcję związków zawartych w ziołach lub nawet brak ekstrakcji składników bioaktywnych (nierozpuszczalnych w wodzie). Stosowanie herbat z ziół o silnym działaniu przeciwpatogennym nie musi zatem *a priori* oznaczać, że zahamowaniu ulegną także bakterie w przewodzie pokarmowym.

Z dokonanych obserwacji wynika, że picie naparów ziołowych nie może zastąpić kuracji probiotycznej stosowanej przy zażywaniu antybiotyku, ponieważ praktycznie żaden z analizowanych preparatów nie pobudzał wzrostu badanych szczepów. Jedynie napar z morwy wykazał działanie stymulujące wzrost *L. casei* LC-1 (rys. 1), jednak nie wpłynął na *L. acidophilus* LA-5 (rys. 2). W liściach morwy znajdują się liczne związki, m.in. flawonoidy, które wykazują działanie przeciwbakteryjne w stosunku do *S. aureus*, *Salmonella* Paratyphi i *Shigella dysenteriae* [Jeszka i in., 2009]. Wykazano również, że alkoholowy ekstrakt z morwy stymuluje wzrost *P. aeruginosa*, a hamuje rozwój *E. coli* [Tirupathi i in., 2011]. Dlatego, na podstawie uzyskanych wyników i danych z innych badań nie można jednoznacznie stwierdzić, że napar ten wpływa stymulująco na naturalną mikrobiotę probiotyczną człowieka. Z kolei mieszanka ziół „Figura detox”, która powodowała zwiększenie liczebności *L. casei* LC-1 o prawie 30%, na organizm działa przeczyszczająco, co w efekcie końcowym może spowodować zmniejszenie liczebności wszystkich mikroorganizmów zasiedlających jelito.

Badane zioła i preparaty ziołowe są bardzo często stosowane przez pacjentów jako środki pomocnicze w leczeniu wielu chorób. Przeprowadzone doświadczenie wykazało, że analizowane napary generalnie nie mają wpływu na naturalną mikrobiotę organizmu, dlatego są stosunkowo bezpieczne dla człowieka (zakładając przestrzeganie zaleceń do ich stosowania i dawek). Herbaty ziołowe mogą więc być dobrym zamiennikiem niektórych syntetycznych leków, niwelując lub łagodząc objawy chorób i nie wywołując przy tym skutków ubocznych. Należy jednak uważać na preparaty wieloskładnikowe.

Otrzymane wyniki potwierdziły, że różne zioła mają odmienny wpływ na poszczególne bakterie – większy wpływ wykazano wobec *Lactobacillus casei* LC-1 niż wobec *Lactobacillus acidophilus* LA-5. Wynika z tego, że pierwszy szczep jest bardziej wrażliwy na działanie składników bioaktywnych obecnych w naparach ziołowych, ale oznacza to również, że inne szczepy wchodzące w skład fizjologicznej mikrobioty jelitowej człowieka mogą być albo znacznie mniej albo znacznie bardziej wrażliwe.

Wnioski

1. Wykazano hamujący wpływ „Verdin fix” na obydwie badane szczepy probiotyczne oraz inhibitorowe działanie mięty na *Lactobacillus casei* LC-1. Nadmierne stosowanie tych ziół może doprowadzić do zaburzenia funkcjonowania fizjologicznej mikrobioty jelitowej, a co za tym idzie mieć niekorzystny wpływ na organizm człowieka.
2. Stwierdzono, że napar z morwy wywiera silne działanie stymulujące na wzrost *Lactobacillus casei* LC-1, dzięki czemu może wspomagać odnawianie prawidłowej mikrobioty jelitowej po kuracjach antybiotykowych.
3. Większość analizowanych ziół i preparatów ziołowym nie wywierała żadnego efektu na bakterie probiotyczne, co sugeruje, że mogą być bezpiecznie spożywane, z zastrzeżeniem przestrzegania zalecanych dawek i procedur przygotowywania i stosowania.

Badania zostały sfinansowane z dotacji na utrzymanie potencjału badawczego przyznanego przez MNiSW

Literatura

1. Adaszyńska M., Swarczewicz M., Markowska-Szczupak A., Jadczak D. (2013). Skład chemiczny i właściwości przeciwdrobnoustrojowe olejku eterycznego i ekstraktu z mięty pieprzowej odmiany `ASIA`. Żywność. Nauka. Technologia. Jakość, 2 (87), 116–125.
2. Chovanova R., Mikulasova M., Vaverkova S. (2013). *In vitro* antibacterial and antibiotic resistance modifying effect of bioactive plant extracts on methicillin-resistant *Staphylococcus epidermidis*, International Journal of Microbiology, 2013: 760969 (doi: 10.1155/2013/760969).
3. De Oliveira J.R., De Castro V.C., Das Gracas Figueiredo Vilela P., Camargo S.E., Carvalho C.A., Jorge A.O., De Oliveira L.D. (2013). Cytotoxicity of Brazilian plants extracts against oral microorganisms of interest to dentistry. BMC Complementary and Alternative Medicine, 13, 208–215.

4. Dzierżanowska D. (2009). Mikroflora fizjologiczna człowieka. Opieka paliatywna nad dziećmi, 17, 157–161.
5. Ferrazzano G.F., Roberto L., Catania M.R., Chiaviello A., De Natale A., Rosceto E., Pinto G., Pollio A., Ingenito A., Palumbo G. (2013). Screening and scoring of antimicrobial and biological activities of Italian vulnerary plants against major oral pathogenic bacteria. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, 2013:316280 (doi: 10.1155/2013/316280).
6. Górską S., Jarzab A., Gamian A. (2009). Bakterie probiotyczne w przewodzie pokarmowym człowieka jako czynnik stymulujący układ odpornościowy. Postępy Higieny i Medycyny Doświadczalnej, 63: 653–667.
7. Hamidpour M., Hamidpour R., Hamidpour S., Shahleri M. (2014). Chemistry, pharmacology, and medicinal property of sage (*Salvia*) to prevent and cure illnesses such as obesity, diabetes, depression, dementia, lupus, autism, heart disease, and cancer. Journal of Traditional and Complementary Medicine, 4 (2): 82–88.
8. Herman A., Herman A.P., Domagalska B.W., Młynarczyk A. (2014). Essential oils and herbal extract as antimicrobial agent in cosmetic emulsion. Indian Journal of Microbiology, 53 (2), 232–237.
9. Jeszka M., Kobus-Cisowska J., Flaczyk E. (2009). Liście morwy jako źródło naturalnych substancji biologicznie aktywnych. Postępy Fitoterapii, 3, 175–179.
10. Kania M., Baraniak J. (2011). Wybrane właściwości biologiczne i farmakologiczne zielonej herbaty (*Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze). Postępy Fitoterapii, 1, 34–40.
11. Kędzia A. (2007). Działanie olejku z mięty pieprzowej (*Oleum menthae piperitae*) na bakterie beztlenowe. Postępy Fitoterapii, 4, 182–186.
12. Kozłowska M., Ziarno M. (2012). Kolendra-skład i zastosowanie. Postępy Fitoterapii, 2, 108–112.
13. Nowak A., Śliżewska K., Libudzisz Z. (2010). Probiotyki—historia i mechanizmy działania. Żywność. Nauka. Technologia. Jakość, 4 (71), 5–19.
14. Nowak A., Libudzisz Z. (2008). Mikroorganizmy jelitowe człowieka. Standardy medyczne/Pediatrics, T. 5, 372–379.
15. Olszewska J., Jagusztyn-Krynicka E.K. (2012). Human microbiome project—mikroflora jelit oraz jej wpływ na fizjologię i zdrowie człowieka. Postępy Mikrobiologii, 51, 4, 243–256.
16. Paguigan N.D., Castillo D.H.B., Chichioco-Hernandez C.L. (2014). Anti-ulcer activity of *Leguminosae* plants. Arquivos de Gastroenterologia, 50 (1), 64–69.
17. Radwan P., Radwan-Kwiatek K., Skrzydło-Radomańska B. (2009). Rola mikroflory jelitowej w nieswoistych zapaleniach jelit. Przegląd gastroenterologiczny, 4 (1), 1–6.
18. Samet A., Arlukowicz E., Nowicki R., Barańska-Rybak W. (2003). Nosicielstwo *Staphylococcus aureus* w jamie nosowej jako czynnik ryzyka chorób skóry i zakażeń ogólnoustrojowych. Przewodnik Lekarza, 6 (9), 28–33.
19. Shahtalebi M.A., Ghanadian M., Farzan A., Shiri N., Shokri D., Faremi S.A. (2013). Deodorant effect of a sage extract stick: Antibacterial activity and sensory evaluation of axillary deodorancy. Journal of Research in Medicinal Sciences, 18 (10), 833–839.
20. Snowden R., Harrington H., Morrill K., LaDeana J., Garrity J., Orian M., Lopez E., Rezaie S., Hassberger K., Familoni D., Moore J., Virdee K., Albornoz-Sanchez L., Walker M., Cavins J., Russell T., Guse E., Reker M., Tschudy O., Wolf J., True T., Ukaegbu O., Ahaghotu E., Jones A., Polanco S., Rocho Y., Waters R., Langland J. (2014). A comparison of the anti-*Staphylococcus aureus* activity of extracts from commonly used medicinal plants. The Journal of Alternative and Complementary Medicine, 20 (5), 375–382.
21. Soković M., Glamoclija J., Marin P.D., Brkić D., van Griensven L.J.L.D. (2010). Antibacterial effects of the essential oils of commonly consumed medicinal herbs using an *in vitro* model. Molecules, 15, 7532–7546.
22. Stańczyk A., Skolimowska U., Wędzisz A. (2008). Zawartość garbników w zielonych i czarnych herbatach oraz właściwości antibakteryjne metanolowych wyciągów. Bromatologia i Chemia Toksykologiczna, 41 (4), 976–980.
23. Tirupathi Rao G., Suresh Babu K., Ujawal Kumar J., Sujana P., Veerabhadr Rao A., Sreedhar A.S. (2011). Anti-microbial principles of selected remedial plants from Southern India. Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine, 1 (4), 298–305.
24. Zielińska-Pisklak M., Szeleszczuk Ł. (2013). Rumianek lekarski – dlaczego warto go mieć w domowej apteczce. Lek w Polsce, 9 (23), 72–79 .

EWA DOMIAN¹

¹*Katedra Inżynierii Żywności i Organizacji Produkcji, Wydział Nauk o Żywności,
Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie*

WYBRANE ASPEKTY STABILNOŚCI SPROSZKOWANYCH ŚRODKÓW SPOŻYWCZYCH W STANIE AMORFICZNYM

Suche produkty spożywcze wytwarza się przez zmieszanie wysuszonych składników żywności lub suszenie mokrych / płynnych produktów przy użyciu różnych technik suszenia, takich jak suszenie walcowe, suszenie rozpyłowe i liofilizacja. Proszki spożywcze to rodzaj suchej żywności lub środków spożywczych, które powinny być homogenne i sypkie [Hedegaard i Skibsted, 2013].

Suszenie rozpyłowe umożliwia produkcję form stałych z roztworów rzeczywistych koloidalnych, zawiesin i emulsji [Woo i Bhandari, 2013]. Proces suszenia rozpyłowego do kapsułkowania składników żywności, takich jak aromaty, barwniki, lipidy lub karotenoidy, jest stosowany od kilku dekad. Technologia kapsułkowania metodą suszenia rozpyłowego ma wciąż ogromny potencjał w rozwiązaniu problemów związanych z reformulacją, wzbogaceniem, stabilizacją i dostarczaniem labilnych bioskładników do żywności, które nie mogą być otrzymywane w prosty sposób innymi metodami [Gharsallaoui i in., 2007, Rodríguez i in., 2016]. Postać suchego proszku preparatów mikrokapsułkowanych jest dogodną formą wprowadzania labilnych składników do produktów o różnych recepturach, w tym mieszanek koncentratów również w formie sproszkowanej.

Suszenie rozpyłowe należy do procesów produkcyjnych, podczas których najczęściej produkt końcowy przyjmuje postać amorficzną. Inne procesy produkcyjne pozwalające na otrzymanie układów amorficznych to między innymi zamrażanie rozpyłowe (spray freeze drying), atmosferyczne zamrażanie rozpyłowe (atmosphere spray freeze drying), ekstruzja topliwa, a także prostsze – wytrącenie przez odparowanie rozpuszczalnika, hartowanie stopionej substancji (quench cooling) czy mielenie [Paluch i Tajber, 2009].

Materiały amorficzne stosowane w produktach spożywczych, takich jak sypkie mieszaniny, powodują występowanie złożonych i trudnych do rozwiązania problemów związanych z przetwarzaniem i przechowywaniem tych produktów. Przyczyną problemów pojawiających się w przypadku form amorficznych jest ich niestabilność w czasie, wrażliwość na wilgotność oraz podwyższoną temperaturę. Zbrylanie proszków, szczególnie tych zawierających niskocząsteczkowe cukry w stanie amorficznym, to typowe niekorzystne zjawisko dla tego typu materiałów [Roos, 1993; Bhandari i Hartel, 2005]. Formy amorficzne mogą stwarzać problemy na etapie formułacji, gorzej się

mieszają i wykazują gorsze właściwości reologiczne w porównaniu z układami krystalicznymi.

Cukry, ze względu na swoje właściwości formowania szkła, pełnią rolę wypełniacza w tworzeniu stałej matrycy proszku, pełniąc tym samym ochronną rolę w stosunku do mikrokapsułkowanych składników. Do zalet przemawiających za układami amorficznymi należy zaliczyć podwyższoną rozpuszczalność i szybkość rozpuszczania, co może prowadzić do podwyższonej dostępności mikrokapsułkowanych substancji czynnych, a w konsekwencji do poprawy ich biodostępności [Paluch i Tajber, 2009]. Pozwala również na modelowanie kinetyki uwalniania substancji aktywnej.

W przypadku niejednorodnych suchych produktów spożywczych, takich jak wielokomponentowe koncentraty w proszku, reagenty, rozdzielone fizycznie w różnych cząstkach surowców proszkowych, mogą reagować tylko po zwiększeniu aktywności wody (a_w) [Hedegaard i Skibsted, 2013]. Ponieważ aktywność wody (a_w) jest znacznie poniżej wartości granicznej dla wzrostu drobnoustrojów, to głównie stabilność chemiczna i fizyczna określa jakość proszku spożywczego [Labuza i in., 1970]. Stan fizyczny takiej żywności, określony przez ilościowo dominujące składniki, bezpośrednio wpływa na stabilność chemiczną składników występujących w mniejszej ilości, w tym składników smakowych, witamin, enzymów czy mikroorganizmów probiotycznych zamkniętych w matrycy utworzonej przez makroskładniki suszonej żywności. Stąd wszelkie zmiany w stanie fizycznym makroskładników mogą również wpływać na charakterystykę chemiczną składników mniejszościowych proszku.

Dostępność wody ma kluczowe znaczenie dla trwałości produktu podczas przechowywania, ponieważ wpływa na szybkość najbardziej pogarszających zmian fizycznych, takich jak zlepianie się cząstek i zbrylanie [Roos, 1993]. Utlenianie lipidów i białek, wraz z reakcjami nieenzymatycznego brunatnienia, prowadzącymi do powstawania charakterystycznego nieprzyjemnego zapachu, utraty barwy i wartości odżywczej, są również zależne od a_w i powiązane z fizycznymi zmianami, często w złożony sposób [Barbosa-Cánovas i in., 2005].

Zbrylanie

Zbrylanie jest niepożądanym zjawiskiem, w którym amorficzne proszki spożywcze przekształcają się w lepiące się, kleiste substancje, co prowadzi do utraty ich funkcjonalności i obniżonej jakości [Aguilera i in., 1995]. Masę proszku określa się jako zbryloną "gdy dwie lub więcej cząstek, pierwotnie zdolnych do samodzielnego przemieszczania się, stykając się tworzą skupiska, w których cząstki tracą zdolność do niezależnych przemieszczeń" [Griffith, 1991]. Najczęściej tworzenie się skupisk jest skutkiem zmian składu i stanu fizycznego składników. Zbrylanie może prowadzić do różnych form zbryleń, począwszy od małych, miękkich agregatów, które mogą być łatwo

rozbite, do zbitych w twardą masę brył. Zjawisko kontrolowanego zbrylania jest wykorzystywane w trakcie takich procesów przetwórczych jak: aglomeracja, spiekanie lub tabletkowanie, gdzie spójność cząstek odgrywa pozytywną rolę.

Przyczyną zbrylania są różnego rodzaju oddziaływania międzycząsteczkowe wywoływane absorpcją wilgoci, podwyższoną temperaturą, lub ciśnieniem statycznym w trakcie przetwarzania, transportu i przechowywania [Peleg, 1983]. Chociaż sam przebieg zbrylania może być różny w różnych prostkach, to skład materiału, wielkość i kształt cząstek, wilgotność i ciśnienie (ciężar własny złoża) oraz wahania temperatury i wilgotności należą do głównych czynników [Chung i in., 2000]. Zbrylanie prostków może być również spowodowane nadmiarowym statycznym ładunkiem elektrycznym na powierzchni cząstek lub wzajemnym mechanicznym blokowaniem i "zagnieżdżaniem" się cząstek o nieregularnym czy włóknistym kształcie [Griffith, 1991].

W prostkach spożywczych, najczęstszym mechanizmem zbrylania jest "zbrylanie wilgotnościowe". Zbrylanie jest inicjowane przez tworzenie mostków ciekłych pomiędzy sąsiednimi cząstkami, które później ulegają zestalaniu, w drodze chłodzenia i suszenia, formując agregaty. Aguilera i in. [1995] podali cztery etapy "wilgotnościowego zbrylania" prostków spożywczych: mostkowanie, aglomeracja, zagęszczanie i upłynnianie. Początkowy etap mostkowania, bez mierzalnego spadku porowatości układu, następuje w wyniku deformacji powierzchni i lepienia się w punktach styku pomiędzy cząstkami. Adhezja bez mostków materiałowych wynika przede wszystkim z sił van derWaalsa i elektrostatycznych, i dotyczy prostków o bardzo drobnych cząstkach o wielkości rzędu 10 μm lub mniejszej [Adhikari i in., 2001]. Aglomeracja jest późniejszym etapem obejmującym nieodwracalną konsolidację mostków, podczas gdy zachowana jest wysoka porowatość układu, co objawia się tworzeniem integralnych strukturalnie grudek cząstek o większych rozmiarach. W kolejnym etapie kompaktacji następuje redukcja przestrzeni międzycząstkowych w wyniku pogrubienia mostków między cząstkami i zagęszczania układu, a deformacja skupisk cząstek prowadzi do utraty ich integralności w osiadającym złożu proszku. Upłynnienie jest ostatnim etapem "wilgotnościowego zbrylania", w którym mostki międzycząsteczkowe zanikają z powodu dużej wilgotności. Ten etap obejmuje zwykle rozpuszczanie frakcji o niskiej masie cząsteczkowej wywołującej higroskopijne zachowanie proszku. Na każdym etapie grudki mogą być mniej lub bardziej liczne, o różnych rozmiarach i różnej twardości. Ilościowy indeks zbrylania jest przydatny do oceny postępujących w czasie zmian w stanie proszku. Dwa wskaźniki morfologiczne mogą być wykorzystane: stosunek porowatości układu w dowolnym czasie do porowatości początkowej i stosunek średnicy mostka między cząstkami do średnicy cząstek [Aguilera i in., 1995]. Zmniejszenie porowatości będzie obserwowane jak tylko pojawi się mostkowanie, zwiększenie wymiarów mostków nastąpi z początkiem etapu zagęszczania [Griffith, 1991].

Ciekłe mostki w spożywczych proszkach mogą tworzyć się wskutek: (a) adsorpcji wilgoci, kondensacji pary wodnej lub przypadkowego nawilżenia proszku lub wyposażenia, (b) topnienia lipidów czy amorficznych cukrów na powierzchni cząstek w podwyższonej temperaturze, (c) uwalniania wody podczas rekrytalizacji amorficznych cukrów, (d) reakcji chemicznych z wytworzeniem ciekłych produktów, i (e) migracji wody pomiędzy składnikami proszku [Peleg, 1983; Roos, 1995].

Zbrylanie w oparciu o koncepcję przemiany szklistej

Około 30 lat temu Levine i Slade [1988] wprowadzili koncepcję przejścia szklistego, znaną w nauce o polimerach, do badań nad zjawiskami załamania struktury amorficznych środków spożywczych i innych materiałów biologicznych [Barbosa-C'anos i Vega-Mercado, 1996]. Stąd w nauce o polimerach żywności, zjawisko załamania, obejmujące zlepianie, zbrylanie i kompaktację, jest traktowane jako zależne od czasu, temperatury i wilgotności płynięcie lepkie mogące prowadzić do zmian w strukturze; przemiany te mogą wystąpić powyżej ich temperatury zeszklenia T_g [Aguilera i in., 1993; Roos, 1995]. Według koncepcji T_g , zbrylanie amorficznych materiałów spożywczych powiązane jest z przejściem od stanu szklistego do stanu mniej lepkiej cieczy, co pozwala na przepływ cieczy i tworzenie ciekłych mostków pomiędzy cząstkami.

W oparciu o koncepcję T_g , proszki spożywcze traktuje się jako materiały amorficzne z własną temperaturą zeszklenia. Gdy proszek jest przechowywany w temperaturze poniżej T_g , jest on w postaci proszku w stanie szklistym o ekstremalnie wysokiej lepkości i przyjmuje charakter ciała mechanicznie stałego, sztywnego, twardego, kruchego [Roos, 1995]. W tym stanie, z powodu bardzo niskiej mobilności cząsteczek, ograniczona jest dyfuzja plastyfikatorów (zazwyczaj wody), polimerów lub składników o niskiej masie cząsteczkowej, co uniemożliwia tworzenie lepkiej powierzchni i zbrylanie w dostatecznie długim czasie. Gdy proszek jest przechowywany w temperaturze wyższej niż jego T_g , dramatycznie zmniejszona lepkość i zwiększona mobilność, skutkować będzie przylepnością cząstek, i w końcu zbryleniem proszku [Chung i in., 2000]. Lepkość (η) amorficznych proszków może zmniejszyć się z $\eta_g = 10^{12/13}$ Pas w temperaturze T_g do wartości $\eta = 10^6$ - 10^8 Pas w lepkim stanie gumowatym ($T > T_g$) [Wallack i King, 1988; Bhandari i Howes, 1999]. Stabilność produktu podczas suszenia i przechowywania można oszacować na podstawie krytycznej lepkości [Wallack i King, 1988, Bhandari i Howes, 1999]. Wraz ze wzrostem temperatury powyżej T_g następuje nagła zmiana szeregu właściwości fizycznych. Najważniejsze z nich to zwiększenie wolnej objętości molowej, zwiększenie ciepła właściwego, współczynnika rozszerzalności cieplnej i stałej dielektrycznej oraz zmiany właściwości lepkosprężystych [Genin i Rene, 1995].

Metoda T_g jest przydatna do przewidywania kleistości i zbrylania proszków [Chuy i Labuza, 1994]. Głównymi stałymi składnikami proszków spożywczych są białka,

węglowodany i lipidy, spośród których węglowodany mają największy wpływ na T_g. W stanie bezwodnym większość biopolimerów (skrobie, gumy) posiada temperaturę T_g około 200°C, większość disacharydów (sacharoza, maltoza, laktoza) od 60 do 100°C, większość monosacharydów (fruktoza, glukoza) od 5 do 30°C [Roos, 1995]. Popularne cukry, takie jak fruktoza, glukoza i sacharoza, mają raczej niską wartość T_g, a ich wpływ na T_g jest istotny w proszkach spożywczych bogatych w cukry. Z kolei wpływ białek i lipidów na T_g jest nieznaczący w większości odwodnionych produktów, takich jak mleko w proszku i ich analogi. Woda jest głównym składnikiem odpowiedzialnym za znaczące obniżenie T_g dowolnego materiału spożywczego, ponieważ woda ma bardzo niską temperaturę T_g wynoszącą -135°C [Johari i in., 1987]. T_g zmniejsza się ze wzrostem zawartości wody [Bhandari i Howes, 1999]. Woda, jako uniwersalny plastyfikator biomateriałów, zmniejsza T_g amorficznej żywności z szybkością 10 °C/0,01 g wody/ g materiału. Amorficzne proszki spożywcze utrzymują swoją sypkość, gdy ich temperatura jest utrzymywana poniżej T_g. Zbrylanie nastąpi w lepkim stanie gumy, gdy zostanie przekroczona pewna różnica temperatur między T i T_g (tj. krytyczna różnica temperatury powyżej T_g do wszczęcia załamania struktury w realnym czasie magazynowania). Wykazano, że krytyczna lepkość nadająca kleistość proszków osiągnięta jest w temperaturze o 10-20°C wyższej od temperatury T_g [Sillick i Gregson, 2010]. Zatem w praktyce zbrylanie wilgotnościowe następuje wskutek wzrostu zawartości wody lub uplastycznienia (poprzez adsorpcję wody czy wzrost temperatury), i obniżenie T_g poniżej temperatury otoczenia [Roos, 1995].

Zbrylanie amorficznego proszku jest zjawiskiem zależnym od czasu. Modelowanie kinetyki zbrylania jest trudnym zadaniem, ponieważ ma na nie wpływ wiele czynników, zarówno wewnętrznych (takich jak: wielkość cząstek, ładunek, higroskopijność i stan fizyczny cząstek), jak i zewnętrznych (temperatura i wilgotność względna otoczenia, naprężenia mechaniczne czy obecność warstw barierowych na wilgoć).

Szybkość zbrylania ze względu na lepkość materiału jest funkcją T - T_g. Lepkość amorficznych materiałów spożywczych w funkcji temperatury próbki, w zakresie pomiędzy T_g i (T_g + 100) K, można oszacować z wykorzystaniem modelu Williams–Landel–Ferry (WLF) [Roos i Karel, 1991a; Wallack i King, 1988; Aguilera i in., 1993]:

$$\log_{10} \frac{\eta}{\eta_g} = \frac{-C_1 \Delta T}{C_2 + \Delta T},$$

gdzie η – lepkość, η_g - lepkość w temperaturze zeszklenia T_g, $\Delta T = T - T_g$, T oznacza temperaturę, a C₁ i C₂ są uniwersalnymi stałymi (w różnych układach żywności przyjmowano C₁ = 17,44 °C i C₂ = 51,6 °C [Aguilera i in., 1993]).

Równanie WLF otrzymano w badaniach mono i polisacharydów. Równanie WLF z uniwersalnymi stałymi z powodzeniem zastosowano w badaniach sacharozy i laktozy, amorficznej mieszaniny sacharozy i fruktozy, hydrolizowanego białka ryb [Roos i Karel, 1991a,b, Aguilera i in., 1993]. Chociaż stosowalność modelu WLF potwierdzono w różnych układach żywnościowych, to generalne stosowanie tego modelu w żywności wymaga weryfikacji. Peleg [1992] wykazał, że w przypadku niektórych polimerów i cukrów model WLF prowadzi do znacznych błędów w szacowaniu lepkości, szczególnie w zakresie 20-30 K powyżej T_g .

W literaturze można znaleźć wartości tzw. krytycznej aktywności a_w^* tj. aktywności wody odpowiadającej takiej zawartości wody, dla której T_g amorficznego materiału przyjmuje konkretną wartość, najczęściej 25°C [Miao i Roos, 2005]. Wartości a_w^* wyznacza się na podstawie izoterm sorpcji wody, przedstawiających zależność między aktywnością wody i zawartością wody, w powiązaniu z temperaturą T_g w funkcji zawartości wody [Roos, 1993]. a_w^* przyjmuje odpowiednio wyższe wartości dla wysokocząsteczkowych polimerów, niższe dla niskocząsteczkowych cukrów. Przykładowo a_w^* wynosi: około 0,8 dla maltodekstryny o ekwiwalencie glukozowym DE5, ~0,39 dla syropu glukozowego o DE 34-38 [Roos, 1993, Sillick i Gregson, 2010] oraz ~0,25, ~0,35 i ~0,39 odpowiednio dla sacharozy, maltozy i laktozy, dwucukrów o tej samej masie cząsteczkowej [Roos, 1993, Sillick i Gregson, 2010]. Parametr a_w^* jest niezwykle użyteczny w przewidywaniu warunków przechowywania proszków. Można oczekiwać zbrzylenia się proszku przy wilgotności względnej powietrza RH wyższej od wartości $a_w^* \cdot 100$ jego składników, ale na szybkość przylepiania i stopień zbrzylenia proszku w czasie mogą mieć wpływ różne czynniki, jak: rodzaj i ilość amorficznych cukrów, podatność cukru na krystalizację, obecność innych substancji w układzie, szybkość dyfuzji zaadsorbowanej wilgoci do wnętrza upakowanego złoza proszku [Miao i Roos, 2005, Domian i in., 2018].

Opracowanie diagramów fazowych obejmujących krzywe zeszklenia i krystalizacji substancji w układzie temperatura (T) i aktywność wody (a_w) wymaga pracochłonnych eksperymentów przechowalniczych [Hedegaard i Skibsted, 2013]. Z tego typu diagramu fazowego (T / a_w) dla laktozy, można przewidzieć dominujący stan fizyczny laktozy w proszkach mlecznych w dowolnej kombinacji wilgotności RH i temperatury przechowywania. Można go również stosować do określenia wymogów suszenia proszków mleka, które mają być przechowywane i używane w różnych warunkach klimatycznych. Aby mleko w proszku było odporne na rekrystalizację laktozy w warunkach tropikalnych, musi być wysuszone do niższej wartości a_w w porównaniu do proszku kierowanego na rynki w umiarkowanym klimacie (proszek o aktywności wody poniżej $a_w = 0,2$ może zachować stabilność w temperaturze powyżej 40°C, struktura proszku o $a_w = 0,4$ zapadnie się w około 20°C).

Krystalizacja bezpostaciowego proszku

Układ amorficzny to materiał w formie stałej pozbawiony układu krystalicznego, a co za tym idzie, posiadający inne właściwości fizykochemiczne niż surowiec krystaliczny. Układ amorficzny jest układem wysokoenergetycznym o wysokiej entalpii wewnętrznej, przez co będzie wykazywał dążność do krystalizacji, czyli przejścia w układ korzystniejszy dla siebie energetycznie. W wyniku bardzo ograniczonej mobilności cząsteczkowej w stanie szklistym, która jest niezbędna do uporządkowania cząsteczek w siatce krystalicznej, przejście od szkła do kryształu będzie przebiegać z bardzo małą szybkością. Jako, że stan szklisty jest bezpostaciowym stanem metastabilnym kontrolowanym kinetycznie, a nie termodynamicznie, materiał może pozostawać w stanie szklistym przez długi czas w zależności od warunków przechowywania [Bhandari i Howes, 1999]. Na przykład możliwe jest przechowywanie amorficznego mleka w proszku przez wiele lat w odpowiednich warunkach temperatury i wilgotności względnej bez znacznych zmian jakości. Krystalizacja zwykle nie zachodzi poniżej T_g w czasie adekwatnym do praktycznego używania i magazynowania proszków spożywczych, a przechowywanie w krótkim czasie powyżej T_g jest również dopuszczalne. Dlatego optymalne warunki przechowywania w szczelnych opakowaniach bez znacznych wahań temperatury mogą zapobiec krystalizacji laktozy zapewniając długi okres trwałości proszków mlecznych z zachowaniem ich właściwości funkcjonalnych [Thomsen i in., 2005].

Krystalizacja laktozy w suszonych proszkach mlecznych jest jednym z najbardziej rozpoznanych czynników obniżania jakości tych proszków, gdy będą wystawione na relatywnie wysoką wilgotność i / lub podwyższoną temperaturę [Lai i Schmidt, 1990]. Podczas rekrystalizacji amorficznej laktozy uwalnia się woda [Jouppila i Roos, 1994b], która zwiększa ruchliwość składników w mleku w proszku i przyspiesza dalszą krystalizację [Thomsen i in., 2005]. Szybkość krystalizacji laktozy wzrasta wraz ze wzrostem a_w , nawet w zamkniętych pojemnikach o stałej zawartości wody, na skutek obniżenia T_g spowodowanego uplastyczniającym działaniem wody [Thomas i in., 2004]. Początkowa a_w handlowych proszków mlecznych wynosi około 0,2, znacznie poniżej krytycznej wartości 0,4, która jest wartością progową pomiędzy szklistą i nieszklistą laktozą w temperaturze otoczenia [Jouppila i Roos, 1994a]. Przechowywanie pełnego mleka w proszku o początkowej wartości a_w 0,2 odpowiada temperaturze T_g około 40°C, przy a_w wyższej niż 0,3 ten poziom temperatury prowadzi do krystalizacji fazy amorficznej i zainicjowania reakcji brązowienia jako widocznych oznak pogorszenia jakości [Thomsen i in., 2005].

Uwalnianie wody w wyniku rekrystalizacji amorficznej laktozy w mleku w proszku aktywuje reagenty reakcji Maillarda, grupy aminowe białek z cukrem redukującym [Labuza i in., 1970]. Wytwarzanie wody we wczesnych etapach reakcji Maillarda

wpływa na zwiększenie a_w suchego proszku. Efekt plastyfikujący wody natychmiast sprawi, że amorficzny materiał będzie bardziej podatny na krystalizację [Jouppila i in., 1994a]. Krystalizacja laktozy z wydzieleniem wody znacznie zwiększy a_w przy ogólnie stałej zawartości wody w układzie, potęgując reakcje Maillarda. W rezultacie zmiany a_w i wytwarzanie wody mają autokatalityczny wpływ na krystalizację laktozy i reakcje Maillarda, również wpływając na zwiększenie utleniania lipidów [Thomsen i in., 2003]. Szybkość reakcji Maillarda, w odwodnionych układach amorficznych poniżej T_g , jest zwykle kontrolowana dyfuzyjnie, a zatem reakcje przebiegają bardzo wolno w zakresie niskiej temperatury przechowalniczej. W warunkach bliskich T_g , szybkość reakcji jest silnie zależna od temperatury i nawet niewielkie zmiany temperatury wywołują duże zmiany w szybkości reakcji [Morales i in., 1997].

Obecność innych cukrów może hamować krystalizację laktozy. W przypadku amorficznej laktozy dodanie sacharozy obniża nieznacznie T_g , ale, co ważniejsze, wydłuża czas indukcji krystalizacji [Thomsen i in., 2006]. Sproszkowane produkty mleczne, zawierające różne ilości sacharozy, są stosowane w cukiernictwie i słodyszach, zabielaaczach instant do gorących i zimnych napojów, jak również w automatach do sprzedaży, gdzie właściwości przepływu są ważne. Hamowanie przejścia szklistego w pobliżu lub nawet powyżej T_g , może być kontrolowane w mieszaninach innych cukrów zależnie od kinetyki tego zjawiska.

Lotne składniki żywności mają bardzo ograniczoną mobilność w szklistej matrycy, ponieważ dyfuzja tych związków zachodzi głównie poprzez pory matrycy [Whorton i Reineccius, 1995]. Jednak, gdy temperatura przechowywania przekracza T_g , dyfuzja lotnych składników ulega znacznemu zwiększeniu, i wzrasta wraz dalszym wzrostem temperatury [Whorton i Reineccius, 1995]. Zwiększenie szybkości dyfuzji w gumiastej matrycy, następuje z powodu wzrostu wolnej objętości, a także ze względu na zmianę transportu i zachowania się lotnych związków w roztworach, jak wykazano dla lotnego 1-n-propanolu jako modelowego związku w układzie amorficznej sacharozy/rafinozy podczas przechowywania powyżej T_g [Bhandari i Howes, 1999]. Stwierdzono, że efekt rekrytalizacji jest jeszcze bardziej niekorzystny, z uwagi na uwalnianie enkapsulowanych związków wrażliwych na utlenianie i ze względu na zwiększenie ruchliwości reagentów [Shimada i in., 1991].

Przenikanie tlenu do i przez szklistą matrycę żywności jest powolnym procesem, co może przeciwdziałać utlenianiu składników aromatycznych, lipidów i białek. Wykazano, że szybkość przenikania cząsteczek tlenu przez szkliste matryce zależy od temperatury i ogranicza utlenianie kapsułkowanego oleju w niskiej temperaturze [Andersen i in., 2000]. Domian i in. [2017b], podobnie jak Carneiro i in. [2013], stwierdzili, że bezpośredni wpływ na stabilność oksydacyjną oleju lnianego zamkniętego w mikro kapsułkach mają kombinacje użytych materiałów ściennych, przy czym wysoka

efektywność mikrokapsułkowania nie była tożsama z wysoką ochroną rdzenia. Domian i in. [2017b] bardziej efektywną ochronę przed utlenianiem oleju uzyskali w matrycy białkowo-trehalozowej, zwłaszcza w układzie z izolatem białek grochu, przechowując proszki w barierowym opakowaniu w temperaturze chłodniczej.

O wyborze trehalozy do mikrokapsułkowania decydują unikalne właściwości tego nieredukującego dwucukru, w tym zdolność do stabilizacji struktur białkowych i lipidów przed degradacją spowodowaną wysuszeniem [Higashiyama i Richards, 2012]. Wysoka temperatura zeszklenia 115°C, która jest najwyższa ze wszystkich disacharydów [Sussich i Cesàro, 2008], umożliwia utrzymanie szklistej struktury trehalozy bez rekrytalizacji w szerszym zakresie warunków środowiskowych. Właściwości stabilizujące trehalozy wiążą się też z włączaniem wody przy tworzeniu krystalicznego dwuwodzianu, co skutkuje efektywnym usuwaniem wody z układu [Sussich i Cesàro, 2008]. Vega i in. [2007] dowiedli, że matryca kazeinian-trehaloza była efektywniejsza od matryc kazeinian-laktoza zastosowanych podczas mikrokapsułkowania tłuszczu mlecznego. Zaobserwowali, że stopień uwolnienia tłuszczu z mikrokapsułek po krystalizacji cukrów był mniejszy w matrycy zawierającej trehalozę.

Proszki owocowe

Występujące na rynku suche koncentraty owocowe to głównie suszone rozpyłowo soki lub ekstrakty z owoców wraz z wypełniaczem (nośnikiem), którym jest maltodekstryna [Gharsallaoui i in., 2007]. Metoda suszenia rozpyłowego, pomimo jej potencjalnie ujemnego wpływu na zachowanie naturalnych składników surowcowych, wynikających z konieczności stosowania bardzo dużych ilości, sięgających 50-60 m³/kg produktu, gorącego powietrza (destrukcyjne oddziaływanie tlenu i temperatury), jest uznawana za korzystną do suszenia materiałów wrażliwych na ciepło ze względu na wyjątkowo krótki czas suszenia [Phisut, 2012]. Proszki owocowe zachowują pełny skład substancji aromatycznych, są trwałe i wygodne w użyciu.

Wiadomym jest, że przekształcenie ciekłego soku do postaci suchego proszku nie jest proste. Niska temperatura zeszklenia (T_g) głównych składników soków (niskocząsteczkowych cukrów, jak fruktoza, glukoza i sacharoza oraz kwasów organicznych, jak kwas cytrynowy, jabłkowy i winowy), a także ich wysoka higroskopijność, wiąże się z ich naturalną tendencją do klejenia [Bhandari i in., 1997]. Wartość T_g mieszanki fruktozy / glukozy / sacharozy (o proporcji podobnej jak w soku owocowym) szacowana jest poniżej temperatury pokojowej [Roos i Karel, 1991a]. W efekcie niemożliwym jest sproszkowanie i/lub przechowywanie soków i ekstraktów owocowych i warzywnych z zachowaniem ich naturalnego składu [Bhandari i in., 1993]. Przekształcenie ciekłego surowca do postaci suchego proszku wymaga dodatku wysokocząsteczkowych substancji nośnikowych wspomagających suszenie, i przyjmuje

się, że ich głównym zadaniem jest podwyższenie temperatury Tg matrycy suszonego materiału [Roos i Karel, 1991a, Bhandari i in., 1993]. Materiały nośnikowe, zwłaszcza te węglowodanowe, powinna charakteryzować wysoka temperatura Tg (100-243°C w przypadku maltodekstryny w zależności od stopnia scukrzenia DE), by uniknąć zbrylania, oklejania ścian suszarki i przypalania depozytów [Goula, 2017]. Teoretycznie lista dodatków wspomagających suszenie soków i ekstraktów owocowych może obejmować substancje naturalnie występujące w żywności lub w niej niespotykane [Ho i in., 2017]. W praktyce, jako nośniki najczęściej są stosowane maltodekstryny i skrobie [Bhandari i in., 1997; Tontul i Topuz, 2017], a także biopolimery jak guma arabska, pektyny i żelatyna [Mahdavi i in., 2014], białka i niskocząsteczkowe surfaktanty [Jayasundera i in., 2011, Adhikari i in., 2009a, b]. Jednakże dodatek tych ostatnich nie ma lub ma niewielki wpływ na temperaturę Tg końcowego produktu [Fang i Bhandari, 2012], a ich działanie wspomagające suszenie jest związane z właściwościami powierzchniowymi i tworzenia filmu.

Odnosnie proszkowych form soków owocowych, zawierających maltodekstryny lub skrobię w funkcji nośnika, przyjmuje się za standard udział suchej substancji owocowej na poziomie 30-50% [Mahdavi i in., 2014; Cortez i in., 2017]. Ma to decydujący wpływ na przebieg, zoptymalizowanie parametrów i wydajność suszenia oraz zachowanie wymaganej funkcjonalności proszku, jego sypkości i higroskopijności [Tontul i Topuz, 2017]. Zachowawcze i wydajne suszenie rozpyłowe soku przy użyciu nośnika skrobiowego na poziomie 60-70% nie pozostaje bez wpływu na walory smakowo-zapachowe produktu. Sproszkowane soki z wysokim udziałem nośnika skrobiowego wykazywać będą niekorzystne cechy organoleptyczne, jak wyczuwalny posmak skrobi, wyblakła barwa i zubożony aromat.

Wybór substancji wspomagających suszenie soków, oprócz zasadniczej funkcji technologicznej nośnika, w znacznej mierze musi uwzględniać potencjał zastosowań, jako dodatku do żywności i możliwość kształtowania szeregu właściwości gotowego proszku [Tontul i Topuz, 2017]. Efekt stosowań maltodekstryn oraz innych substancji nośnikowych, najczęściej z mniejszym lub większym udziałem maltodekstryny, analizowano w badaniach suszenia rozpyłowego soku z takich owoców jak: aronia [Gawalek i in., 2017], acani [Tonon i in., 2011], jabłko [Bialik i Domian, 2006; De Oliveira i in., 2009], brzoskwinia [Bhandari i in., 1993], banan [Izidoro i in., 2011], truskawka chińska Canberry [Gong i in., 2008; Fang i Bhandari, 2012], jeżyna [Ferrari i in., 2013], borówka amerykańska [Jiménez-Aguilar i in., 2011; Flores i in., 2014], czarna porzeczka [Bhandari i in., 1993], gac [Kha i in., 2010], czarna morwa [Fazaeli i in., 2012], gujawa [Osorio i in., 2011], limonka [Roustapour i in., 2006], mango [Jaya i Das, 2004; Cano-Chauca i in., 2005; Caparino i in., 2012], pomarańcza [Brennan i in., 1971; Chegini i Ghobadian, 2005; Goula i Adamopoulos, 2010; Barbosa i in., 2015], marakuja

[Angel i in., 2009; Borrmann i in., 2013], ananas [Bhandari i in., 1993; Abadio i in., 2004], arbuz [Quek i in., 2007], tamaryndowiec [Cynthia i in., 2015], rodzynki [Papadakis i in., 2006], granat [Yousefi i in., 2011; Roustapour i in., 2012; Miravet i in., 2016], persymona [Du i in., 2014], trzcina cukrowa [Largo Avila i in., 2015], opuncja figowa [Obón i in., 2009; Saénz i in., 2009], wiśni [Can Karaca i in., 2016].

W dwóch różnych badaniach porównywano wpływ różnych materiałów ściennych, takich jak maltodekstryna, guma arabska i ich połączenie, na temperaturę Tg produktu końcowego i stwierdzono, że jest ona podobna niezależnie od użytych materiałów nośnikowych [Mara Righetto i Maria Netto, 2005; Nayak i Rastogi, 2010]. Z drugiej strony Kingwatee i in., [2015] uzyskali znacznie wyższą temperaturę Tg dla proszków wytwarzanych z gumą arabską w porównaniu z proszkami z maltodekstryną i obserwowane różnice wyjaśnili różnicą mas cząsteczkowych materiałów nośnikowych. Podobne wyniki zgłosiło kilku innych badaczy [Yousefi i in., 2011; Can Karaca i in., 2016]. Zgodnie z oczekiwaniami wymiana maltodekstryny na izolat białka sojowego powodowała niewielkie zmiany w temperaturze Tg proszków [Muzaffar i Kumar, 2015].

Dynamiczna sorpcja par (DVS) w analizie amorficznych proszków

Metody kalorymetryczne, dynamiczna sorpcja par, spektroskopia i rentgenografia stanowią podstawowy zestaw metod analitycznych służący do charakterystyki jakościowej i ilościowej systemów amorficznych. Dodatkowo, mikrokalorymetria izotermiczna, odwrócona chromatografia gazowa, czy magnetyczny rezonans jądrowy pozwalają na ich pełną charakterystykę powierzchniową i objętościową [Paluch i Tajber, 2009].

Dynamiczna sorpcja par (Dynamic Vapour Sorption, DVS) jest metodą alternatywną w stosunku do metod termicznych, pozwalającą na oszacowanie stabilności układu amorficznego. W odróżnieniu od kalorymetrii skaningowej (DSC), gdzie próbka jest kontrolowana pod względem stabilności termicznej, DVS w warunkach izotermicznych poddaje próbkę materiału działaniu określonej wilgotności. Metoda ta pozwala oszacować jak szybko próbka absorbuje wilgoć z otaczającego ją środowiska. Podstawę pomiaru stanowi analiza grawimetryczna. DVS to bardzo czuła odmiana wagi szalkowej. Na jednym ramieniu umieszcza się pustą próbkę referencyjną, na drugim analizowaną. Obie są poddawane przepływowi mieszaniny gazu i pary wodnej o określonej wilgotności. Analiza ta, przy odpowiednio zaplanowanym schemacie pomiarowym, pozwala uchwycić punkt zeszklenia, jak też moment rekrytalizacji amorficznej próbki w określonej temperaturze i wilgotności względnej [Burnett i in., 2004; Yuan i in., 2011]. Opisowo pozwala ona określić krytyczną wilgotność względną dla danej temperatury, poniżej której próbka pozostanie stabilna [Domian i in., 2017a].

Adsorpcja wody w proszkach amorficznych wystawionych na działanie wysokiej wilgotności względnej RH przebiega zazwyczaj w kilku etapach [Burnett i in., 2004]. Są to po pierwsze adsorpcja wody przez szkło przed punktem zeszklenia, po drugie przejście szkliste w pewnym punkcie, w trakcie którego lub po którym następuje krystalizacja, na końcu etap pokryształacyjny, gdzie materiał krystaliczny pobiera dodatkową porcję wilgoci. Rzeczywista liczba obserwowanych etapów zależy od całkowitego poboru wilgoci. Przed zeszkleniem sorpcja wody jest zazwyczaj ograniczona jedynie do adsorpcji powierzchniowej. Powyżej punktu zeszklenia, ruchliwość molekularna zwiększa się, umożliwiając masową absorpcję wody. Przejście od stanu amorficznego do krystalicznego jest obrazowane poprzez znaczny spadek masy. Dlatego też zmiana charakterystyki sorpcji może być użyta jako metoda pomiaru procesu zeszklenia [Burnett i in., 2004]. Badania realizowane w tym zakresie obejmują zarówno charakterystykę procesu krystalizacji, jak też dynamikę wcześniejszych etapów adsorpcji wody lub sytuacji, w której krystalizacja nie następuje [Burnett i in., 2004; Miao i Roos, 2005; Sussich i Cesàro, 2008].

W badaniach Domian i in., [2017a] metodę DVS wykorzystano do określenia krytycznej względnej wilgotności przechowywania modelowych sypkich preparatów białkowo-tłuszczowych. Proszki zawierały tłuszcz palmowo-rzepakowego lub olej rzepakowy na poziomie 35% lub 53% i charakteryzowały się stałą proporcją (5:1) składnika węglowodanowego (dekstryny, trehalozy, polidekstrozy lub inuliny) i białkowego (izolat białka grochu). Z wykorzystaniem urządzenia DVS Intrinsic (Surface Measurement Systems, UK) przeprowadzono eksperymenty sorpcji wody, w których próbki proszków w temperaturze 25°C zostały wystawione na działanie liniowo narastającego profilu wilgotności względnej (RH) od 0% do 100 %, przy pięciu różnych poziomach szybkości przyrostu względnej wilgotności (V_{RH}) wynoszącej: 2, 4, 6, 8 i 10% na godz. Analiza przebiegu krzywych, obrazujących przyrost zawartości wody w próbkach w czasie, pozwalała na wyznaczenie położenia punktu przegięcia, charakterystycznego dla zeszklenia (RH_S). Następnie wykreślenie liniowej zależności $RH_S=f(V_{RH})$, tj. izotermicznej wilgotności zeszklenia od szybkości przyrostu RH dla danego materiału oraz ekstrapolacja RH_S do zerowej szybkości zmian wilgotności, gdzie prężność pary wodnej jest bliska zeru, stanowiła wyznaczenie krytycznego parametru układu, to jest krytycznej wilgotności względnej (RH_c) dla temperatury 25°C, poniżej której próbka pozostanie stabilna.

Wyniki pokazały, że na kształtowanie się RH_c suszonych rozpyłowo proszków w istotny sposób wpływał rodzaj węglowodanu. Ani rodzaj tłuszczu ani zawartość tłuszczu nie różnicowały istotnie wartości RH_c . Proszki z nutriozą wykazywały najwyższą RH_c (70-80%) przy 25 °C, następnie proszki z inuliną (RH_c 30-40%) i proszki z trehalozą i polidekstrozą (RH_c 30-40%). Stwierdzono istnienie silnej dodatniej korelacji

poniędzy RH_c a wartościami zawartości wody w monowarstwie izoterm adsorpcji wody wyznaczonych w tej samej temperaturze metodą DVS, jak również wartościami temperatury T_g wyznaczonymi metodą MDSC.

W pracy Domian i in., [2018] przedstawiono analizę izoterm adsorpcji DVS wyznaczonych przy dwudziestu trzech poziomach aktywności wody z zakresu 0,005-0,95 i w trzech temperaturach (25, 30 i 35 °C) dla modelowych proszków tłuszczowych, formułowanych z izolatem białka grochu, różnymi rodzajami tłuszczu i węglowodanów. Stwierdzono, że izotermy DVS stanowią dobre narzędzie do określania indukowanych wilgocią przemian fazowych amorficznych węglowodanów w wieloskładnikowych proszkach. Proszki wytworzone z wysokocząsteczkową dekstryną charakteryzowały się stałym przyrostem zaadsorbowanej wilgoci aż do $a_w \sim 0,7$, bez przejść fazowych po nawilżaniu. Proszki z trehalozą, inuliną i polidekstrozą w zakresie a_w 0,3-0,7 ulegały przemianie szklistej i krystalizacji. Co istotne, w proszkach, zawierających stały w temperaturze 25 °C tłuszcz palmowy, obserwowano przesunięcie indukowanych wilgocią przejść fazowych w kierunku wyższych wartości aktywności i zawartości wody w materiale.

Podsumowanie

Sproszkowana forma środków spożywczych, o odpowiedniej recepturze, dostosowanej do ich przeznaczenia, powinna zapewnić im wysoką funkcjonalność, trwałość i powtarzalną jakość. Struktura i wielkość cząstek, ostatecznie determinuje właściwości proszków, jak gęstość nasypowa, łatwość dozowania i wkomponowywania do suchych mieszanek spożywczych, brak pylenia, higroskopijność i stabilność przechowalnicza. Suszenie rozpyłowe jest wiodącą metodą produkcyjną sproszkowanych środków spożywczych na skalę przemysłową, oferując największą uniwersalność procesu produkcyjnego. Suszenie rozpyłowe to jednoetapowa metoda produkcji jednolitych morfologicznie mikrocząstek, a produkt końcowy najczęściej przyjmuje postać amorficzną o podwyższonej rozpuszczalności i szybkości rozpuszczania. Niestabilność w czasie, wrażliwość na wilgotność i podwyższoną temperaturę układów amorficznych może powodować występowanie złożonych i trudnych do rozwiązania problemów związanych z przetwarzaniem i przechowywaniem tych produktów. Zbrylanie proszków, szczególnie tych zawierających niskocząsteczkowe cukry w stanie amorficznym, to typowe niekorzystne zjawisko. Formy amorficzne mogą też stwarzać problemy na etapie formulacji, gorzej się mieszają. Jednak możliwości, jakie prezentują układy amorficzne cukrów, skłaniają coraz częściej do opracowywania projektów zakładających użyteczność takich układów. Stan szkła umożliwia tworzenie wokół makrocząstek „obłewu” o dużej lepkości i niskiej ruchliwości jej cząsteczek, chroniąc w ten sposób struktury biologiczne, białka i lipidy przed degradacją spowodowaną wysuszeniem. Szklotwórcze

właściwości materiałów wykorzystuje się w technologii kapsułkowania labilnych bioskładników żywności. Cukry, ze względu na swoje właściwości formowania szkła, pełnią rolę wypełniacza w tworzeniu stałej matrycy proszku, pełniąc tym samym ochronną rolę w stosunku do mikrokapsułkowanych składników. Znajomość właściwości materiałów amorficznych i możliwości ich charakteryzacji jest nieodzowna we współczesnym przemyśle spożywczym.

Literatura

1. Abadio F., Domingues A., Borges S., Oliveira V. (2004). Physical properties of powdered pineapple (*Ananas comosus*) juice effect of malt dextrin concentration and atomization speed. *Journal of Food Engineering*, 64, 285-287.
2. Adhikari B., Howes T., Bhandari B. R., Langrish T. A. G. (2009a). Effect of addition of proteins on the production of amorphous sucrose powder through spray drying. *Journal of Food Engineering*, 94, 144-153.
3. Adhikari B., Howes T., Bhandari B.R., Truong V. (2001). Stickiness in foods: a review of mechanisms and test methods. *International Journal of Food Properties*, 4(1), 1-33.
4. Adhikari B., Howes T., Wood B.J., Bhandari B.R. (2009b). The effect of low molecular weight surfactants and proteins on surface stickiness of sucrose during powder formation through spray drying. *Journal of Food Engineering*, 94, 135-143.
5. Aguilera J.M., Levi G., Karel M. (1993). Effect of water content on the glass transition and caking of fish protein hydrolyzates. *Biotechnology Progress*, 9(6), 651-654.
6. Aguilera J.M., Valle J.M., Karel M. (1995). Review: caking phenomena in food powders. *Trends in Food Science and Technology*, 6, 149-154.
7. Andersen A.B., Risbo J., Andersen M.L., Skibsted L.H. (2000). Oxygen permeation through an oil-encapsulating glassy food matrix studied by ESR line broadening using a nitroxyl spin probe. *Food Chemistry*, 70 (4): 499-508.
8. Angel R.C.M., Espinosa-Muñoz L.C., Aviles-Aviles C., González-García R., Moscosa-Santillán M., Grajales-Lagunes, A., Abud-Archila M. (2009). Spray-drying of passion fruit juice using lactose-maltodextrin blends as the support material. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 52(4), 1011-1018.
9. Barbosa J., Borges S., Amorim M., Pereira M., Oliveira A., Pintado M. (2015). Comparison of spray drying, freeze drying and convective hot air drying for the production of a probiotic orange powder. *Journal of Functional Foods*, 17, 340-351.
10. Barbosa-Cánovas G.V., Ortega-Rivas E., Juliano P., Yan H. (2005). Undesirable phenomena and their relation to processing. *Food Powders: Physical Properties, Processing, and Functionality*, 305-360.
11. Barbosa-Cánovas G.V., Vega-Mercado H. (1996). Physical, chemical and micorbiological characteristics of dehydrated foods, w: *Dehydration of Foods*. Chapman Hall, New York, 29-99.
12. Bhandari B.R., Datta N., Howes T. (1997). Problems associated with spray drying of sugar-rich foods. *Drying Technology*, 15, 671-684.
13. Bhandari B.R., Senoussi A., Dumoulin E.D., Lebert A. (1993). Spray drying of concentrated fruit juices. *Drying Technology*, 11(5), 1081-1092.
14. Bhandari B.R., Hartel R.W. (2005). Phase transitions during food powder production and powder stability, w: *Encapsulated and Powdered Foods* (red. C. Onwulata). Boca Raton, USA: Taylor Francis, 261-292.
15. Bhandari B.R., Howes T. (1999). Implication of glass transition for the drying and stability of dried foods. *Journal of Food Engineering*, 40, 71-79.
16. Borrmann D., Pierucci A.P.T.R., Leite S.G.F., da Rocha Leão M.H.M. (2013). Microencapsulation of passion fruit (*Passiflora*) juice with n-octenylsuccinate-derivatised starch using spray-drying. *Food and Bioproducts Processing*, 91(1), 23-27.
17. Brennan J., Herrera J., Jowitt R. (1971). A study of some of the factors affecting the spray drying of concentrated orange juice, on a laboratory scale. *International Journal of Food Science Technology*, 6, 295-307.

18. Burnett D.J., Thielmann F., Booth J. (2004). Determining the critical relative humidity for moisture-induced phase transitions. *International Journal of Pharmaceutics*, 287(1), 123-133.
19. Can Karaca A., Guzel O., Ak M.M. (2016). Effects of processing conditions and formulation on spray drying of sour cherry juice concentrate. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 96, 449-455.
20. Cano-Chauca M., Stringheta P., Ramos A., Cal-Vidal J. (2005). Effect of the carriers on the microstructure of mango powder obtained by spray drying and its functional characterization. *Innovative Food Science Emerging Technologies*, 6, 420-428.
21. Caparino O., Tang J., Nindo C., Sablani S., Powers J., Fellman J. (2012). Effect of drying methods on the physical properties and microstructures of mango (*Philippine 'Carabao' var.*) powder. *Journal of Food Engineering*, 111, 135-148.
22. Carneiro H.C., Tonon R.V., Grosso C.R., Hubinger M.D. (2013). Encapsulation efficiency and oxidative stability of flaxseed oil microencapsulated by spray drying using different combinations of wall materials. *Journal of Food Engineering*, 115(4), 443-451.
23. Chegini G., Ghobadian B. (2005). Effect of spray-drying conditions on physical properties of orange juice powder. *Drying Technology*, 23, 657-668.
24. Chung M.S., Ruan R.R., Chen P., Chung S.H., Ahn T.H., Lee K.H. (2000). Study of caking in powdered foods using nuclear magnetic resonance spectroscopy. *Journal of Food Science*, 65(1), 134-138.
25. Chuy L.E., Labuza T.P. (1994). Caking and stickiness of dairy-based food powders as related to glass transition. *Journal of Food Science*, 59(1), 43-46.
26. Cortez R., Luna-Vital D.A., Margulis D., Mejia, E. (2017). Natural pigments: stabilization methods of anthocyanins for food applications. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 16(1), 180-198.
27. Cynthia S., Bosco J.D., Bhol S. (2015). Physical and structural properties of spray dried tamarind (*Tamarindus indica L.*) pulp extract powder with encapsulating hydrocolloids. *International Journal of Food Properties*, 18, 1793-1800.
28. De Oliveira M.A., Maia G.A., De Figueiredo R.W., De Souza A.C.R., De Brito E.S., De Azeredo H.M.C. (2009). Addition of cashew tree gum to maltodextrin based carriers for spray drying of cashew apple juice. *International Journal of Food Science Technology*, 44, 641-645.
29. Domian E., Bialik E. (2006). Wybrane właściwości fizyczne soku jabłkowego w proszku. *Acta Agrophysica*, 8(4), 803-814.
30. Domian E., Brynda-Kopytowska A., Cieśla J., Górska A. (2018). Effect of carbohydrate type on the DVS isotherm-induced phase transitions in spray-dried fat-filled pea protein-based powders. *Journal of Food Engineering*, 222, 115-125.
31. Domian E., Brynda-Kopytowska A., Cieśla J., Ostrowska-Ligeża E. (2017a). Effect of the type of carbohydrate on the DVS critical relative humidity in spray-dried fat-filled pea protein-based powders: Comparison with monolayer coverage and Tg values. *Food Hydrocolloids*, 73, 335-343.
32. Domian E., Brynda-Kopytowska A., Marzec A. (2017b). Functional properties and oxidative stability of flaxseed oil microencapsulated by spray drying using legume proteins in combination with soluble fiber or trehalose. *Food and Bioprocess Technology*, 10(7), 1374-1386.
33. Du J., Ge Z.-Z., Xu Z., Zou B., Zhang Y., Li C.-M. (2014). Comparison of the efficiency of five different drying carriers on the spray drying of persimmon pulp powders. *Drying Technology*, 32, 1157-1166.
34. Fang Z., Bhandari B. (2012). Comparing the efficiency of protein and maltodextrin on spray drying of bayberry juice. *Food Research International*, 48, 478-483.
35. Fazaeli M., Emam-Djomeh Z., Kalbasi-Ashtari A., Omid M. (2012). Effect of process conditions and carrier concentration for improving drying yield and other quality attributes of spray dried black mulberry (*Morus nigra*) juice. *International Journal of Food Engineering*, 8, 1-20.
36. Ferrari C.C., Marconi Germer S.P., Alvim I.D., de Aguirre J.M. (2013). Storage stability of spray-dried blackberry powder produced with maltodextrin or gum Arabic. *Drying Technology*, 31, 470-478.
37. Flores F.P., Singh R.K., Kong F. (2014). Physical and storage properties of spray-dried blueberry pomace extract with whey protein isolate as wall material. *Journal of Food Engineering*, 137, 1-6.
38. Gawalek J., Domian E., Ryniecki A., Bakier S. (2017). Effects of the spray drying conditions of chokeberry (*Aronia melanocarpa L.*) juice concentrate on the physicochemical properties of powders. *International Journal of Food Science Technology*, 52(9), 1933-1941.

39. Genin N., Rene F. (1995). Analysis of the role of glass-transition in food-processing. *Journal of Food Engineering*, 26 (4), 391-408.
40. Gharsallaoui A., Roudaut G., Chambin O., Voilley A., Saurel R. (2007). Applications of spray-drying in microencapsulation of food ingredients: An overview. *Food Research International*, 40, 1107-1121.
41. Gong Z., Zhang M., Mujumdar A.S., Sun J. (2007). Spray drying and agglomeration of instant bayberry powder. *Drying Technology*, 26, 116-121.
42. Goula A.M. (2017). Implications of non-equilibrium state glass transitions in spray-dried sugar-rich foods, w: *on-Equilibrium States and Glass Transitions in Foods* (red. B. Bhandari, Y. H. Roos). Cambridge, MA: Woodhead Publishing, 253-282.
43. Goula A.M., Adamopoulos K.G. (2010). A new technique for spray drying orange juice concentrate. *Innovative Food Science Emerging Technologies*, 11, 342e351.
44. Griffith E.J. (1991). *Cake Formation in Particulate Systems*. VCH Publishers, Inc., New York.
45. Hedegaard R.V., Skibsted L.H. (2013). Shelf-life of food powders, w: *Handbook of Food Powders: processes and properties* (red. B.R. Bhandari, N. Bansal, M. Zhang, P. Schuck). Cambridge, UK: Woodhead Publishing Limited, 409-434.
46. Higashiyama T., Richards A.B. (2012). Trehalose, w: *Sweeteners and sugar alternatives in food technology* (red. K. O'Donnell, M. Kearsley). John Wiley & Sons, 417-432.
47. Ho T.M., Truong T., Bhandari B. (2017). Spray-Drying and Non-Equilibrium States/Glass Transition, w: *Non-Equilibrium States and Glass Transitions in Foods* (red. B. Bhandari, Y.H. Roos). Cambridge, MA: Woodhead Publishing, 111-136.
48. Izidoro D.R., Sierakowski M.R., Haminiuk C.W.I., De Souza C. F., de Paula Scheer A. (2011). Physical and chemical properties of ultrasonically, spray-dried green banana (*Musa cavendish*) starch. *Journal of Food Engineering*, 104(4), 639-648.
49. Jaya S., Das H. (2004). Effect of maltodextrin, glycerol monostearate and tricalcium phosphate on vacuum dried mango powder properties. *Journal of Food Engineering*, 63(2), 125-134.
50. Jayasundera M., Adhikari B., Adhikari R., Aldred P. (2011). The effect of protein types and low molecular weight surfactants on spray drying of sugar-rich foods. *Food Hydrocolloids*, 25, 459-469.
51. Jiménez-Aguilar D.M., Ortega-Regules A.E., Lozada-Ramírez J.D., Pérez-Pérez M.C.I., Vernon-Carter E.J., Welti-Chanes J. (2011). Color and chemical stability of spray-dried blueberry extract using mesquite gum as wall material. *Journal of Food Composition and Analysis*, 24(6), 889-894.
52. Johari G.P., Hallbrucker A., Maye, E. (1987). The glass liquid transition of hyperquenched water. *Nature*, 330 (6148), 552-553.
53. Jouppila K., Roos Y.H. (1994a). Glass transitions and crystallization in milk powders. *Journal of Dairy Science*, 77 (10), 2907-2915.
54. Jouppila K., Roos Y.H. (1994b). Water sorption and time-dependent phenomena of milk powders. *Journal of Dairy Science*, 77 (7), 1798-1808.
55. Kha T.C., Nguyen M.H., Roach P.D. (2010). Effects of spray drying conditions on the physicochemical and antioxidant properties of the Gac (*Momordica cochinchinensis*) fruit aril powder. *Journal of Food Engineering*, 98, 385-392.
56. Kingwatee N., Apichartsrangkoon A., Chaikham P., Worametrachanon S., Techarung J., Pankasemsuk T. (2015). Spray drying *Lactobacillus casei* 01 in lychee juice varied carrier materials. *LWT-Food Science and Technology*, 62, 847-853.
57. Labuza T.P., Tannenba S.R., Karel M. (1970). Water content and stability of low moisture and intermediate-moisture foods. *Food Technology*, 24 (5), 543.
58. Lai H.M., Schmidt S.J. (1990). Lactose crystallization in skim milk powder observed by hydrodynamic equilibria, scanning electron microscopy and ²H nuclear magnetic resonance. *Journal of Food Science*, 55(4), 994-999.
59. Largo Avila E., Cortes Rodríguez M., Velásquez C., José, H. (2015). Influence of maltodextrin and spray drying process conditions on sugarcane juice powder quality. *Revista Facultad Nacional de Agronomía, Medellín*, 68(1), 7509-7520.
60. Levine H., Slade L. (1988). Water as a plasticizer: physico-chemical aspects of low-moisture polymeric systems. *Water Science Reviews*, 3, 79-185.
61. Mahdavi S.A., Jafari S.M., Ghorbani M., Assadpoor E. (2014). Spray-drying microencapsulation of anthocyanins by natural biopolymers: a review. *Drying technology*, 32(5), 509-518.

62. Mara Righetto A., Maria Netto F. (2005). Effect of encapsulating materials on water sorption, glass transition and stability of juice from immature acerola. *International Journal of Food Properties*, 8, 337-346.
63. Miao S., Roos Y.H.J. (2005). Crystalization kinetics and x-ray diffraction of crystal formed in amorphous lactose, trehalose, and lactose/trehalose mixtures. *Journal of Food Science*, (70), 350-358.
64. Miravet G., Alacid M., Obón J.M., Fernández-López J.A. (2016). Spray-drying of pomegranate juice with prebiotic dietary fibre. *International Journal of Food Science and Technology*, 51(3), 633-640.
65. Morales F.J., Romero C., Jimenezperez S. (1997). Chromatographic determination of bound hydroxymethylfurfural as an index of milk protein glycosylation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45 (5), 1570-1573.
66. Muzaffar K., Kumar P. (2015). Effect of soya protein isolate as a complementary drying aid of maltodextrin on spray drying of tamarind pulp. *Drying Technology*, 34, 142-148.
67. Nayak C.A., Rastogi N.K. (2010). Effect of selected additives on microencapsulation of anthocyanin by spray drying. *Drying Technology*, 28, 1396-1404.
68. Obón J.M., Castellar M.R., Alacid M., Fernández-López J.A. (2009). Production of a red–purple food colorant from *Opuntia stricta* fruits by spray drying and its application in food model systems. *Journal of Food Engineering*, 90(4), 471-479.
69. Osorio C., Forero D.P., Carriazo J.G. (2011). Characterisation and performance assessment of guava (*Psidium guajava* L.) microencapsulates obtained by spray drying. *Food Research International*, 44, 1174-1181.
70. Paluch K., Tajber L. (2009). Zarys metod charakterystyki fizykochemicznej układów amorficznych produkowanych metodą suszenia rozpyłowego. *Farmacja Polska*, 29 (6), 93-99
71. Papadakis S.E., Gardeli C., Tzia C. (2006). Spray drying of raisin juice concentrate. *Drying Technology*, 24, 173-180.
72. Peleg M. (1983). Physical characteristics of food powders, w: *Physical Properties of Foods* (red. M. Peleg, E.B. Bagley). AVI Publishing Company Inc., Westport, 293-323.
73. Peleg M. (1992). On the use of WLF model in polymers and foods. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 32(1), 59-66.
74. Phisut N. (2012). Spray drying technique of fruit juice powder: Some factors influencing the properties of product. *International Food Research Journal*, 19, 1297-1306.
75. Quek S.Y., Chok N.K., Swedlund P. (2007). The physicochemical properties of spray-dried watermelon powders. *Chemical Engineering and Processing: Process Intensification*, 46(5), 386-392.
76. Rodríguez J., Martín M.J., Ruiz M.A., Clares B. (2016). Current encapsulation strategies for bioactive oils: From alimentary to pharmaceutical perspectives. *Food Research International*, 83, 41-59.
77. Roos Y.H. (1993). Water activity and physical state effects on amorphous food stability. *Journal of Food Processing and Preservation*, 16, 433-447.
78. Roos Y.H. (1995). Glass transition-related physicochemical changes in foods. *Food Technology*, 49 (10), 97-102.
79. Roos Y.H. (1995). Time-dependent phenomena, w: *Phase Transitions in Foods*. Academic Press, New York, 193-245.
80. Roos Y.H., Karel M. (1991a). Phase transitions of mixtures of amorphous polysaccharides and sugars. *Biotechnology Progress*, 7, 49-53.
81. Roos Y.H., Karel M. (1991b). Plasticizing effect of water on thermal behavior and crystallization of amorphous food models. *Journal of Food Science*, 56(1), 38-43.
82. Roustapour O.R., Azad N.M., Sarshar M. (2012). Determination of pomegranate juice powder properties produced by a pilot plant spray dryer with a two-fluid nozzle. *Drying Technology*, 30, 1906-1917.
83. Roustapour O.R., Hosseinalipour M., Ghobadian B. (2006). An experimental investigation of lime juice drying in a pilot plant spray dryer. *Drying Technology*, 24, 181-188.
84. Saénz C., Tapia S., Chávez J., Robert P. (2009). Microencapsulation by spray drying of bioactive compounds from cactus pear (*Opuntia ficus-indica*). *Food Chemistry*, 114(2), 616-622.
85. Shimada Y., Roos Y.H., Karel M. (1991). Oxidation of methyl linoleate encapsulated in amorphous lactose-based food model. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 39 (4), 637-641.
86. Sillick M., Gregson C.M. (2010). Critical water activity of disaccharide/maltodextrin blends. *Carbohydrate Polymers*, 79, 1028-1033.

87. Sussich F., Cesàro A. (2008). Trehalose amorphization and recrystallization. *Carbohydrate Research*, 343, 2667-2674
88. Thevenet F. (2010). Acacia Gum (Gum Arabic), w: *Food stabilisers, thickeners and gelling agents* (red. A. Imason). Oxford, Blackwell, 11-30.
89. Thomas M.E.C., Scher J., Desobry-Banon S., Desobry S. (2004). Milk powders ageing: Effect on physical and functional properties. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 44 (5), 297-322.
90. Thomsen M.K., Knudsen J.C., Risbo J., Skibsted L.H. (2003). Effect of lactose crystallisation on the oxidative stability of infant formula. *Milchwissenschaft-Milk Science International*, 58 (7-8), 406-409.
91. Thomsen M.K., Lauridsen L., Skibsted L.H., Risbo J. (2005). Temperature effect on lactose crystallization, Maillard reactions, and lipid oxidation in whole milk powder. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53 (18), 7082-7090.
92. Thomsen M.K., Reimer S., Risbo J., Skibsted L.H. (2006). Lactose crystallization in whole milk powder. Effect of added sucrose. *Milchwissenschaft-Milk Science International*, 61 (4), 430-433.
93. Tonon R.V., Freitas S.S., Hubinger M.D. (2011). Spray drying of açai (*Euterpe oleraceae Mart.*) juice: Effect of inlet air temperature and type of carrier agent. *Journal of Food Processing and Preservation*, 35, 691-700.
94. Tontul I., Topuz A. (2017). Spray-drying of fruit and vegetable juices: effect of drying conditions on the product yield and physical properties. *Trends in Food Science Technology*, 63, 91-102.
95. Vega C., Goff H.D., Roos, Y.H. (2007). Casein molecular assembly affects the properties of milk fat emulsions encapsulated in lactose or trehalose matrices. *International Dairy Journal*, 17(6), 683-695.
96. Wallack D.A., King J. (1988). Sticking and agglomeration of hygroscopic, amorphous carbohydrate and food powders. *Biotechnology Progress* 4(1), 31-35.
97. Whorton C., Reineccius G.A. (1995). Evaluation of the mechanisms associated with the release of encapsulated flavor materials from maltodextrin matrices, w: *Encapsulation and Controlled Release of Food Ingredients* (red. G. A. Reineccius, S. J. Risch). Washington, D.C., American Chemical Society. 143-160.
98. Woo M.W., Bhandari B. (2013). Spray drying for food powder production, w: *Handbook of Food Powders: processes and properties* (red. B.R. Bhandari, N. Bansal, M. Zhang, P. Schuck).. Cambridge, UK: Woodhead Publishing Limited, 29-56.
99. Yousefi S., Emam-Djomeh Z., Mousavi S. (2011). Effect of carrier type and spray drying on the physicochemical properties of powdered and reconstituted pomegranate juice (*Punica granatum L.*). *Journal of Food Science and Technology*, 48, 677-684.
100. Yuan X., Carter B.P., Schmidt S.J. (2011). Determining the critical relative humidity at which the glassy to rubbery transition occurs in polydextrose using an automatic water vapor sorption instrument. *Journal of Food Science*, 76(1), 78-89.

EMILIA BERNAS¹

¹*Katedra Technologii Owoców, Warzyw i Grzybów, Uniwersytet Rolniczy w Krakowie,
e.bernas@ur.krakow.pl*

GRZYBY JADALNE JAKO ŹRÓDŁO SKŁADNIKÓW BIOAKTYWNYCH

Wstęp

Grzyby jadalne, z uwagi na swoje walory sensoryczne, są chętnie spożywane przez ludność wielu krajów świata. Oprócz dobrego smaku są również źródłem składników biologicznie aktywnych, co powoduje, że zaliczane mogą być do żywności funkcjonalnej. Ich walory prozdrowotne doceniane są głównie w krajach azjatyckich, m.in. w Chinach i w Japonii, gdzie w celu utrzymania, a nawet poprawy stanu zdrowia stosowane były już od tysięcy lat. Dobrze znany w Japonii i innych krajach azjatyckich gatunek shii-take (*Lentinus edodes*), jest obecnie drugim, po pieczarce dwuzarodnikowej (*Agaricus bisporus*), najczęściej uprawianym na świecie gatunkiem grzyba. Jak zaznaczają uczeni, poza spożywaniem grzybów jako żywności, Azjaci mają głęboko zakorzenioną tradycję używania ich w celach medycznych. Dane literaturowe wskazują między innymi na ich ważną terapeutyczną rolę w leczeniu raka i innych chorób [Solomon i in., 1999; Wasser i Weis, 1999; Manzi i Pizzoferrato, 2000; Barros i in., 2008 a, b].

Skład chemiczny i wartość odżywcza grzybów jadalnych

Owocniki grzybów jadalnych, w zależności od gatunku, zawierają od 80-95 g wody /100 g części jadalnych [Prasad i in., 2015]. W suchej masie przeważają węglowodany (55-87 g/100 g s.m.) oraz białko (4-37 g/100 g s.m.) (Tabela 1). W dużych ilościach występują także składniki mineralne (6-12 g/100 g s.m.) [Kalac, 2013]. Oprócz gatunku, skład chemiczny grzybów zależy także od warunków klimatycznych panujących w czasie wzrostu owocników, rodzaju podłoża oraz wieku i części owocnika [Vetter, 1994; Shah i in., 1997; Manzi i in., 2001].

Węglowodany występujące w grzybach obejmują związki przyswajalne (mannitol, glukoza, glikogen) oraz nieprzyswajalne: oligosacharydy (trehaloza) i polisacharydy (β -glukany, chityna, mannany) [Wang i in., 2014]. Błonnik pokarmowy, w zależności od gatunku, może stanowić od 5 do 40 g/100 g suchej masy grzybów. Do gatunków najzasobniejszych we włókno surowe można zaliczyć grzyby z rodzaju *Lactarius* (rydze) oraz grzyby shii-take (*Lentinula edodes*). β -glukanom występującym w grzybach przypisuje się silne właściwości porozdrowotne i w związku z tym od wielu lat są one wykorzystywane w medycynie wschodnioazjatyckiej. Do typowych β -glukanów grzybowych można zaliczyć m.in. występujący w shii-take lentinian, czy w boczniaku pleuran [Rop i in., 2009].

Tabela 1. Podstawowy skład chemiczny wybranych gatunków grzybów jadalnych, g/100 g s.m. [Prasad i in., 2015]

Gatunek grzyba	Białko	Tłuszcz	Popiół	Węglowodany
Pieczarka dwuzarodnikowa (<i>Agaricus bisporus</i>)	14,1	2,2	9,7	74,0
Shii-take (<i>Lentinus edodes</i>)	4,5	1,7	6,7	87,1
Bocznik ostrygowaty (<i>Pleurotus ostreatus</i>)	7,0	1,4	5,7	85,9
Bocznik erynii (<i>Pleurotus eryngii</i>)	11,0	1,5	6,2	81,4
Bocznik sajor-caju (<i>Pleurotus sajor-caju</i>)	37,4	1,0	6,3	55,3
Płomiennica zimowa (<i>Flammulina velutipes</i>)	3,9	2,9	7,2	86,0
Shimeji (<i>Hypsizigus marmoreus</i>)	21,0	5,6	8,2	65,6

Owocniki grzybów charakteryzują się wysokim poziomem dobrze przyswajalnych składników mineralnych. Popiół stanowi od 6 do 10 g/100 g suchej masy (Tabela 1), a wśród składników mineralnych dominuje potas (Tabela 2). Zawartość poszczególnych składników zależy od gatunku i wieku owocnika, średnicy kapelusza, a także od rodzaju podłoża. Rozkład omawianych substancji jest różny w różnych częściach owocnika, ale z reguły w większej ilości występują one w kapeluszu niż w trzonie (Tabela 2). Wykazano, że zawartość makroskładników takich jak: sód, potas i fosfor jest stała, natomiast zawartość wapnia, magnezu, chloru, glinu i siarki zależy od składu podłoża [Strmisková i in., 1992; Vetter, 1994]. Grzyby mogą także gromadzić metale ciężkie, a wśród nich głównie arsen, ołów, kadm i rtęć [Wang i in., 2014].

Grzyby jadalne stanowią dobre źródło witamin z grupy B, szczególnie tiaminy (wit. B₁), ryboflawiny (wit. B₂), niacyny (wit. B₃), pirydoksyny (wit. B₆) oraz prowitaminy D₂ [Rajewska i Bałasińska, 2004; Bernaś i Jaworska, 2016; Bernaś i Jaworska, 2018]. Porównanie najbardziej popularnych gatunków grzybów jadalnych pokazuje, że borowik szlachetny to gatunek o największej zawartości witamin z grupy B [Mattila i in., 2001]. Bocznik ostrygowaty zawiera więcej kwasu foliowego, witaminy B₁ i B₃, ale mniej witaminy B₁₂ niż pieczarka dwuzarodnikowa. W grzybach stwierdzono także znaczące ilości witaminy B₃. W 100 g świeżej masy pieczarka dwuzarodnikowa zawiera 5 mg witaminy B₃, co jest poziomem nie notowanym w innych produktach spożywczych.

Tabela 2. Zawartość wybranych składników mineralnych w grzybach jadalnych [Falandysz i Frankowska, 2007; Falandysz i in., 2007; Kowalewska i in., 2007; Chudzyński i Falandysz, 2008], mg/kg suchej masy

Składnik	Część owocnika	Borowik szlachetny (<i>Boletus edulis</i>)	Czubajka kania (<i>Macrolepiota procera</i>)	Koźlarz czerwony (<i>Leccinum rufum</i>)	Maślak żółty (<i>Suillus grevillei</i>)
K	Kapelusz	29000	49000	37000	41000
	Trzon	16000	21000	30000	31000
Mg	Kapelusz	940	2500	920	1700
	Trzon	490	1700	620	700
Na	Kapelusz	340	10	76	73
	Trzon	400	21	140	0,2
Zn	Kapelusz	170	650	240	170
	Trzon	73	310	130	3900
Ca	Kapelusz	100	440	100	0,4
	Trzon	97	1900	130	0,5
Fe	Kapelusz	46	120	61	0,9
	Trzon	30	160	59	0,8
Cu	Kapelusz	40	220	100	31
	Trzon	14	110	51	13
Mn	Kapelusz	34	85	29	19
	Trzon	31	290	29	46
Al	Kapelusz	28	99	50	1,7
	Trzon	22	115	53	1,7
Cd	Kapelusz	11	1,9	0,6	1,3
	Trzon	3,3	0,15	-	-
Hg	Kapelusz	7,6	3,1	-	<0,1
	Trzon	3,8	1,6	-	<0,1

- nie analizowano

Pod względem zawartości witaminy D najbogatszymi gatunkami są shii-take i borowik szlachetny, a pod względem prowitaminy D₂ pieczarka dwuzarodnikowa. Należy podkreślić, że prowitamina D₂ może być przekształcona w witaminę D₂ w wyniku poddania owocników promieniowaniu UV, przy czym duże znaczenie ma gatunek grzyba, zawartość wilgoci oraz rodzaj promieniowania [Jasinghe i Perera, 2006; Jasinghe i in., 2007]. Simon i in. [2011] wykazali, że owocniki piecarki dwuzarodnikowej poddane

naświetlaniu promieniami UVB prawie 100-krotnie zwiększają syntezę witaminy D₂. Grzyby zawierają niewielkie ilości witaminy C (Tabela 3).

Tabela 3. Zawartość witamin z grupy B i witaminy D₂ w grzybach jadalnych, w 100 g suchej masy [Lasota i Sylwestrzak, 1982; Takamura i in., 1991; Mattila i in., 1994; Watanabe i in., 1994; Mattila i in., 2001; Reis i in. 2012, Barreira i in., 2014; Bernaś i Jaworska, 2016; Bernaś i Jaworska, 2018]

Witamina	Bocznik ostrogowaty	Pieczarka dwuzarodnikowa	Shii-take	Borowik szlachetny	Pieprznik jadalny
B ₁ (mg)	0,90-4,25	0,56-1,24	0,60	1,25	0,58
B ₂ (mg)	2,5-2,84	4,39-5,10	1,80	9,36	5,58
B ₃ (mg)	65,0	39,7-362,0	31,0	69,5	47,0
B ₁₂ (µg)	0,6	0,8	0,8	*	*
Folacyny (µg)	640	450	300	*	*
D ₂ (µg)	0,3	3,0-5,3	22,0-110,0	35,0	*
Prowitamina D ₂ (mg)	104	352-480	217	234	105
C (mg)	20	17-80	25	*	*
Tokoferole (mg)	0,03	0,06-3,20	0,05	*	*

* brak danych

Wiele gatunków grzybów jadalnych, głównie pochodzących ze stanowisk naturalnych, może być źródłem innych składników bioaktywnych, w tym m.in. ergotioneiny. Związek ten ma bardzo silne właściwości antyoksydacyjne i występuje w grzybach na poziomie od 5 do nawet 285 mg/100 g s.m. [Guo i in., 2012; Wang i in., 2014].

Właściwości prozdrowotne grzybów jadalnych

Grzyby jadalne, ze względu na możliwość wytwarzania dużej liczby metabolitów wtórnych, są stosowane do produkcji suplementów diety oraz jako środki terapeutyczne w medycynie komplementarnej. Ponadto mogą być wykorzystywane do produkcji nowych leków, ponieważ zawierają związki o działaniu antyoksydacyjnym, przeciwnowotworowym, przeciwwirusowym, hepatoprotekcyjnym, immunomodulującym i hipocholesterolemicznym. Za wymienione powyżej właściwości odpowiedzialne są głównie licznie występujące w owocnikach substancje fenolowe, sterole, alkaloidy, laktony, terpeny i ceramidy, bioaktywne polisacharydy i kompleksy polisacharydowo-białkowe [De Silva i in., 2013; Villares i in., 2012]. Właściwości immunomodulujące, przeciwnowotworowe, przeciwwirusowe i hepatoprotekcyjne związane są z obecnością β-glukanów [Rathore i in., 2017; Sari i in., 2016; Zhang i in.,

2007]. Główną cechą strukturalną β -glukanów grzybowych jest łańcuch główny beta-1,3-D-glukanu z pojedynczymi resztami D-glukozyłowymi połączonymi wiązaniami beta-1,3 wzdłuż głównego łańcucha [Chang i Wasser, 2012]. Działanie beta-glukanów polega na indukowaniu odpowiedzi immunologicznej organizmu [Brown i Gordon, 2005].

Działanie przeciwnowotworowe

Za właściwości przeciwnowotworowe grzybów odpowiedzialne są głównie β -glukany i lektyny, przy czym mechanizm oddziaływania lektyn nie został jeszcze dokładnie poznany [Koyama i in., 2002]. W przypadku β -glukanów oddziaływanie polega na indukowaniu układu immunologicznego, zarówno jego odpowiedzi humoralnej, jak i komórkowej. Aktywność β -glukanów zależy od ich struktury, masy cząsteczkowej i liczby rozgałęzień [Brown i Gordon, 2005]. Do gatunków cechujących się wysoką zawartością β -glukanów można zaliczyć głównie grzyby shii-take (*Lentinula edodes*) – lentinian, żagwicę listkową (*Grifola frondosa*) – grifolan, lakownicę żółtą – reishi (*Ganoderma lucidum*) i wrośniaka różnobarwnego (*Trametes versicolor*) – krestin, proteo-glukan [Sari i in., 2017]. Typowym β -glukanem o działaniu immunostymulującym i jednym z najdłużej stosowanych w leczeniu jest lentinan. Oddziaływanie tego związku polega prawdopodobnie na hamowaniu rozwoju komórek nowotworowych poprzez stymulację systemu odpornościowego. Lentinan aktywuje cytotoksyczne makrofagi i komórki pomocnicze T i NK oraz promuje różnicowanie się i aktywację limfocytów T [Chihara, 1987]. Z kolei w badaniach klinicznych dotyczących stosowania wrośniaka różnobarwnego zawierającego β -glukany zaobserwowano stymulację układu odpornościowego i wzrost wskaźnika przeżycia pacjentów z rakiem okrężnicy i odbytnicy [Ito i in., 2004]. Glukany z wrośniaka różnobarwnego były wykorzystywane w terapii nowotworów, takich jak rak żołądka, jelita grubego i rak piersi [Maehara i in., 2012; Vikineswary i in., 2013]. Solomon i in. [1999] wykazali, że podawanie ekstraktów z owocników borowika szlachetnego (*Boletus edulis*) i czasznicy olbrzymiej (*Calvatia gigantean*) myszom chorującym na mięsaka zwiększało ich szansę na przeżycie. Wyraźne działanie przeciwnowotworowe wykazywały także ekstrakty wodne z płomiennicy zimowej (*Flammulina velutipes*), shii-take (*Lentinus edodes*) i bocznika ostrygowatego (*Pleurotus ostreatus*).

Działanie przeciwmiażdżycowe

Za właściwości przeciwmiażdżycowe grzybów odpowiedzialne są głównie polisacharydy: chitosany i glukany. Związki te mogą zapobiegać rozwojowi chorób sercowo-naczyniowych, otyłości i cukrzycy, bowiem regulują glikemię poprzez redukcję poziomu cholesterolu całkowitego i LDL oraz obniżanie stopnia wchłaniania tłuszczu w przewodzie pokarmowym [Kozarski i in., 2011; Friedman, 2016]. Badania naukowe

wykazały, że składniki wyizolowane z owocników *Lentinula edodes*, *Pleurotus florida*, *Auricularia auricula* i *Ganoderma lucidum* obniżają poziom cholesterolu, trójglicerydów i glukozy we krwi, zapobiegają zaburzeniom sercowo-naczyniowym i są korzystne w chorobie niedokrwiennej serca [Rathore i in., 2017].

Działanie przeciwzapalne

Zapalenie jest naturalną odpowiedzią układu odpornościowego na uszkodzenia wywołane przez czynniki fizyczne, chemiczne i patogenne. Ostre zapalenie jest procesem krótkotrwałym, jednak stan zapalny może przekształcić się w stan przewlekły [Dennis i Norris, 2015]. Przyczyną tego zjawiska mogą być niedobory przeciwutleniaczy, witamin, oraz niektórych składników mineralnych (cynku, seleniu), a także czynniki fizjologiczne, takie jak wiek osoby. Przewlekły stan zapalny charakteryzuje się autoimmunizacją choroby, a także towarzyszy chorobom układu sercowo-naczyniowego, chorobom metabolicznym i neurodegeneracyjnym oraz nowotworowym [Okin i Medzhitov, 2012].

Za działanie przeciwzapalne grzybów odpowiedzialne są sacharydy, w tym disacharyd trehaloza oraz polisacharydy chityna, chitozany oraz beta-glukany. Trehaloza może hamować prozapalne białka, jak również obniżać peroksydację lipidów i kwasu arachidonowego z błon komórkowych, indukowanych przez reaktywne formy tlenu [Echigo i in., 2012]. Wysuszone owocniki pieczarki dwuzarodnikowej zawierają około 1-3 g/100 g trehalozy [Wannet i in., 1998]. polisacharydy Grzybowe są klasyfikowane jako prebiotyki, stymulując wzrost normalnej korzystnej bakteryjnej flory jelitowej [Aida i in., 2009; Chou i in., 2013].

Literatura

1. Aida F.M.N.A., Shuhaimi M., Yazid M., Maaruf A.G. (2009). Mushrooms as a potential source of prebiotics, a review. *Trends in Food Science and Technology*, 20, 567-575.
2. Barreira J.C.M., Oliveira M.B.P.P., Ferreira I.C.F.R. (2014). Development of a novel methodology for the analysis of ergosterol in mushrooms. *Food Analytical Methods*, 7, 217-223.
3. Barros L., Cruz T., Baptista P., Estevinho L.M., Ferreira I.C.F.R. (2008 a). Wild and commercial mushrooms as source of nutrients and nutraceuticals. *Food and Chemical Toxicology*, 46, 2742-2747.
4. Barros L., Venturini B.A., Baptista P., Estevinho L.M., Ferreira I.C.F.R. (2008 b). Chemical composition and biological properties of Portuguese wild mushrooms: A comprehensive study. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56, 3856-3862.
5. Bernaś E., Jaworska G. (2016). Vitamins profile as an indicator of the quality of frozen *Agaricus bisporus* mushrooms. *Journal of Food Composition and Analysis*, 49, 1-8.
6. Bernaś E., Jaworska G. (2018). Culinary-medicinal mushroom products as a potential source of vitamin D. *International Journal of Medicinal Mushrooms*, 19(10), 925-935.
7. Brown G.D., Gordon S. (2005). Immune recognition of fungal beta-glucans. *Cellular Microbiology*, 7, 471-479.
8. Chang S.T., Wasser S.P. (2012). The role of culinary-medicinal mushrooms on human welfare with a pyramid model for human health. *International Journal of Medicinal Mushrooms*, 14, 95-134.
9. Chihara G. (1987). Antitumor and metastasis – inhibitory activities of Lentinan as an immunomodulator: an overview. *Cancer Detection and Prevention*, 1, 423-443.

10. Chou W., Sheih I.C., Fang T.J. (2013). The applications of polysaccharides from various mushroom wastes as prebiotics in different systems. *Journal of Food Science*, 78, M1041-1048.
11. Chudzyński K., Falandysz J. (2008). Składniki mineralne i wartości współczynnika ich nagromadzenia w owocnikach maślaka żółtego (*Suillus grevillei*) z okolic Zalewu Wiślanego. *Bromatologia i Chemia Toksykologiczna*, XLI(2), 111-120.
12. De Silva D.D., Rapior S., Sudarman E., Stadler M., Xu J., Alias S.A. (2013). Bioactive metabolites from macrofungi; ethnopharmacology, biological activities and chemistry. *Fungal Diversity*, 62, 1-40.
13. Dennis EA., Norris P.C. (2015). Eicosanoid storm in infection and inflammation. *Nature Reviews Immunology*, 15(8), 511-523 Erratum in *Nature Reviews Immunology*, 15(11), 724.
14. Echigo R., Shimohata N., Karatsu K., Yanom F., Kayasuga-Kariya Y., Fujisawa A., i in. (2012). Trehalose treatment suppresses inflammation, oxidative stress, and vasospasm induced by experimental subarachnoid hemorrhage. *Journal of Translational Medicine*, 10, 80.
15. Falandysz J., Frankowska A. (2007). Niektóre pierwiastki metaliczne i ich współczynniki biokoncentracji w borowiku szlachetnym (*Boletus edulis*) z Puszczy Świętokrzyskiej. *Bromatologia i Chemia Toksykologiczna*, XL(3), 257-260.
16. Falandysz J., Gucia M., Mazur A. (2007). Niektóre składniki mineralne i ich współczynniki biokoncentracji w czubajce kani (*Macrolepiota procera*) z okolic Poniatowej w woj. lubelskim. *Bromatologia i Chemia Toksykologiczna*, XL(3), 249-255.
17. Friedman M. (2016). Mushroom polysaccharides: Chemistry and antiobesity, antidiabetes, anticancer, and antibiotic properties in cells, rodents, and humans. *Foods (Basel, Switzerland)*, 5, E80.
18. Guo Y.J., Deng, G.F., Xu X.R., Wu S., Li S., Xia E. Q., i in. (2012). Antioxidant capacities, phenolic compounds and polysaccharide contents of 49 edible macro-fungi. *Food & Function*, 3, 1195-1205.
19. Ito K., Nakazato H., Koike A., Takagi H., Saji S., Baba S., i in. (2004). Long-term effect of 5-fluorouracil enhanced by intermittent administration of polysaccharide K after curative resection of colon cancer. A randomized controlled trial for 7-year follow-up. *International Journal of Colorectal Disease*, 19, 157-164.
20. Jasinghe V.J., Perera C.O. (2006). Ultraviolet irradiation: The generator of vitamin D₂ in edible mushrooms. *Food Chemistry*, 95, 638-643.
21. Jasinghe V.J., Perera C.O., Sablani S.S. (2007). Kinetics of the conversion of ergosterol in edible mushrooms. *Journal of Food Engineering*, 79, 864-869.
22. Simon R.R., Phillips K.M., Horst R.L., Munro I.C. (2011). Vitamin D mushrooms: comparison of the composition of button mushrooms (*Agaricus bisporus*) treated postharvest with UVB light or sunlight. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 59, 8724-8732.
23. Kalac P. (2013). A review of chemical composition and nutritional value of wild-growing and cultivated mushrooms. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 93, 209-218.
24. Kowalewska I., Bielawski L., Falandysz F. (2007). Niektóre pierwiastki i ich współczynniki biokoncentracji w koźlarzu czerwonym (*Leccinum rufom*) z terenu Polski północnej. *Bromatologia i Chemia Toksykologiczna*, XL(4), 329-335.
25. Koyama Y., Katsuno Y., Miyoshi N., Hayakawa S., Mita T., Muto H., Isemura S., Aoyagi Y., Isemura M. (2002). Apoptosis induction by lectin isolated from the mushroom *Boletopsis leucomelas* on U937 cells. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*, 66, 784-789.
26. Kozarski M., Klaus A., Nikšić M., Jakovljević D., Helsper J.P.F.G., Van Griensven L.J.L.D. (2011). Antioxidative and immunomodulating activities of polysaccharide extracts of the medicinal mushrooms *Agaricus bisporus*, *Agaricus brasiliensis*, *Ganoderma lucidum* and *Phellinus linteus*. *Food Chemistry*, 129, 1667-1675.
27. Lasota W., Sylwestrzak J. (1982). Skład chemiczny grzybów uprawowych. Cz. II. Bocznik ostrygowaty (*Pleurotus ostreatus* (Fr.: ex Jaquin)) i jego odmiana florydzka (*P. Florida* (Eger.)). *Bromatologia i Chemia Toksykologiczna*, 15, 1-2, 1-10.
28. Maehara Y., Tsujitani S., Saeki H., Oki E., Yoshinaga K., Emi Y., Morita M., Kohnoe S., Kakeji Y., Yano T., Baba H. (2012) Biological mechanism and clinical effect of protein-bound polysaccharide K (KRESTIN): review of development and future perspectives. *Surgery Today*, 42(1), 8-28.
29. Manzi P., Aguzzi A., Pizzoferrato L. (2001). Nutritional value of mushrooms widely consumed in Italy. *Food Chemistry*, 73, 321-325.
30. Manzi P., Pizzoferrato L. (2000). Beta-glucans in edible mushrooms. *Food Chemistry*, 68, 315-318.

31. Mattila P., Konko K., Eurola M., Pihlava J.-M., Astola J., Vahteristo L., Hietaniemi V., Kumpulainen J., Valtonen M., Piironen V. (2001). Contents of vitamins, mineral elements, and some phenolic compounds in cultivated mushrooms. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49, 5, 2343-2348.
32. Mattila P.H., Piironen V.L., Uusi-Rauva E.J., Koivistoinen P.E. (1994). Vitamin D contents in edible mushrooms. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 42(11), 2449-2453.
33. Middleton Jr.E., Kandaswami C., Theoharides T.C. (2000). The effects of plant flavonoids on mammalian cells: implications for inflammation, heart disease and cancer. *Pharmacological Reviews*, 52, 673-839.
34. Okin D., Medzhitov R. (2012). Evolution of inflammatory diseases. *Current Biology*, CB, 22, 733-740.
35. Prasad S., Rathore H., Sharma S., Yadav A.S. (2015). Medicinal mushrooms as a source of novel functional food. *International Journal of Food Science, Nutrition and Dietetics*, 04(5), 221-225.
36. Rajewska J., Bałasińska B. (2004). Związki biologicznie aktywne zawarte w grzybach jadalnych i ich korzystny wpływ na zdrowie. *Postępy Higieny i Medycyny Doświadczalnej*, 58, 352-357.
37. Rathore H., Prasad S., Sharma S. (2017). Mushroom nutraceuticals for improved nutrition and better human health: A review. *Pharma Nutrition*, 5, 35-46.
38. Reis F.S., Barros L., Martins A., Ferreira I.C.F.R. (2012). Chemical composition and nutritional value of the most widely appreciated cultivated mushrooms: An inter-species comparative study. *Food and Chemical Toxicology*, 50, 191-197.
39. Rop O., Mlcek J., Jurikova T. (2009). Beta-glucans in higher fungi and their health effects. *Nutrition Reviews*, 67, 624-631.
40. Sari M., Prange A., Lelley J.I., Hambitzer R. (2017). Screening of beta-glucan contents in commercially cultivated and wild growing mushrooms. *Food Chemistry*, 216, 45-51.
41. Sari M., Hambitzer R., Lelley J., Toepler K., Teusch N., Nickisch-Hartfiel A. (2016). Characterization of cross-flow ultrafiltration fractions from maitake medicinal mushroom, *Grifolia frondosa* (*Agaricomycetes*), reveals distinct cytotoxicity in tumor cells. *International Journal for Medicinal Mushrooms*, 18(8), 671-680.
42. Shah H., Khalil I.A., Jabeen S. (1997). Nutritional composition and protein quality of *Pleurotus* mushroom. *Sarhad Journal of Agriculture*, 13(6), 621-626.
43. Solomon P., Wasser S.P., Weis A. (1999). Therapeutic effects of substances occurring in higher Basidiomycetes mushrooms: a modern perspective. *Critical Reviews in Immunology*, 19, 65-96.
44. Strmisková G., Strmiska F., Dubravický J. (1992). Mineral composition of oyster mushroom. *Die Nahrung*, 36(2), 210-212.
45. Takamura K., Hoshino H., Sugahara T., Amano H. (1991). Determination of vitamin D₂ in shiitake mushroom (*Lentinus edodes*) by high-performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography A*, 545(1), 201-204.
46. Vetter J. (1994). Mineral elements in the important cultivated mushrooms *Agaricus bisporus* and *Pleurotus osteratus*. *Food Chemistry*, 50(3), 277-279.
47. Vikineswary S., Hui W.K., Naidu M., David P.R. (2013) Neuronal Health – can culinary and medicinal mushrooms help. *Journal of Traditional and Complementary Medicine*, 3(1), 62-68.
48. Villares A., Mateo-Vivaracho L., Guillamon E. (2012). Structural features and health properties of polysaccharides occurring in mushrooms. *Agriculture*, 2,452-471.
49. Wang X.-M., Zhang J., Wu L.-H., Zhao Y.-L., Li T., Li J.-Q., Wang J.-Z., Liu H.-G. (2014). A mini-review of chemical composition and nutritional value of edible wild-grown mushroom from China. *Food Chemistry*, 151, 279-285.
50. Wannet W.J., Op den Camp H.J., Wisselink H.W., van der Drift C., Van Griensven L.J., Vogels G.D. (1998). Trehalose treatment suppresses inflammation, oxidative stress, and vasospasm induced by experimental subarachnoid hemorrhage. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1425, 177-188.
51. Wasser S.P., Weis A.L. (1999). Medicinal properties of substances occurring in higher basidiomycetes mushrooms: current perspectives (Review). *International Journal of Medicinal Mushrooms*, 1, 31-62.
52. Watanabe T., Tsuchihashi N., Takai Y., Tanaka K., Suzuki A. (1994). Effects of ozone exposure during cultivation of oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*) on chemical components of the fruit bodies. *Journal of Japanese Society of Food Science and Technology*, 41(10), 705-708.
53. Zhang M., Cui, S.W., Cheung P.C.K., Wang Q. (2007). Antitumor polysaccharides from mushrooms: A review on their isolation process, structural characteristics and antitumor activity. *Trends in Food Science and Technology*, 18, 4-19.

INGA KLIMCZAK¹, EWA MACIEJEWICZ¹¹Katedra Towaroznawstwa Żywności, Wydział Towaroznawstwa, Uniwersytet Ekonomiczny w Poznaniu

WPŁYW EKSTRAKTU Z DZIKIEJ RÓŻY NA BARWĘ MĘTNEGO SOKU JABŁKOWEGO

STRESZCZENIE

Celem pracy było określenie wpływu ekstraktu z dzikiej róży (EDR) na barwę mętneho soku jabłkowego z odmiany 'Golden Delicious'. Badano sok świeży i przechowywany przez 3 i 6 h (temperatura pokojowa, z dostępem światła), z różną zawartością ekstraktu z róży (1, 2 i 3 g/l). W celu określenia stopnia brązowienia badanych soków jabłkowych podczas przechowywania oraz wpływu ekstraktu z dzikiej róży na zmianę brązowienia soków, prześledzono zmiany parametrów barwy $L^*a^*b^*$, parametru ΔE^*_{ab} , indeksu brązowienia (ΔBI) oraz wartości absorbancji przy długości fali 420 nm (ΔA_{420}). Oznaczono także zawartość ekstraktu ogólnego i zmierzono wartość pH.

Dodatek ekstraktu z dzikiej róży wpłynął na stabilizację barwy przechowywanego przez 3 i 6 h w 22°C mętneho soku jabłkowego. Stopień hamowania brązowienia soku zależał od stężenia ekstraktu w soku. Wykazano, że optymalnym stężeniem EDR wpływającym na hamowanie brązowienia soku jabłkowego, a tym samym na stabilizację barwy przechowywanego soku jest 3 g ekstraktu z dzikiej róży/l soku.

Słowa kluczowe: mętny sok jabłkowy, ekstrakt z dzikiej róży, barwa, brązowienie enzymatyczne

Wprowadzenie

Barwa mętneho soku jabłkowego jest jednym z najważniejszych wyróżników jego jakości. Z punktu widzenia konsumenta jest cechą podlegającą ocenie w pierwszej kolejności podczas jego decyzji zakupowej [Kudęłka i Głuszek, 2014; Włodarska i in., 2016]. Przy produkcji soku mętneho pomijany jest proces klarowania, filtracji i obróbki enzymatycznej. Soki tego typu, w porównaniu z sokami klarownymi, są z jednej strony bogatsze w związki polifenolowe i pektyny, co stanowi o ich wyższej wartości żywieniowej, a z drugiej strony są bardziej podatne na brązowienie. Szybkie ciemnienie tych soków związane jest z utlenieniem zawartych w nich związków polifenolowych przez polifenolooksydazę PPO [Oszmiański i in., 2007; Gasik i Mitek, 2012]. Tak więc, głównym zadaniem w technologii produkcji naturalnie mętneho soku jabłkowego jest ochrona barwy przed niekorzystnymi zmianami.

Coraz częściej w produkcji żywności rezygnuje się z syntetycznych dodatków. Stąd też uwaga, zarówno środowiska naukowców, jak i producentów soków, skierowana jest na poszukiwanie naturalnych substancji do produkcji soków mętnych, zapobiegających

niekorzystnym zmianom ich barwy. Liczne badania wykazały, że ekstrakty polifenolowe, wyodrębnione z roślin, wykazują zdolność hamowania aktywności PPO. Hamowanie procesu brązowienia przez ekstrakty roślinne wynika z obecności w nich związków biologicznie aktywnych, wśród których związki polifenolowe odgrywają wiodącą rolę [Kim i Uyama, 2005; Chen i in., 2009; Loizzo i in., 2012].

Dzika róża (*Rosa canina* L.) należy do rodziny różowatych (łac. *Rosaceae*), jest krzewem ozdobnym jak i dziko rosnącym, uprawianym w celach dekoracyjnych oraz leczniczych. Owoce dzikiej róży, charakteryzuje wysoka wartość odżywcza, jak i żywieniowa, wynikająca z obecności różnorodnych związków biologicznie czynnych, takich jak witamina C, związki polifenolowe, karotenoidy, tokoferole [Zocca i in., 2011; Klensporf-Pawlik i Klimczak, 2013; Nadpal i in., 2016].

Celem pracy było określenie wpływu ekstraktu z dzikiej róży (EDR) na barwę mętneho soku jabłkowego z odmiany 'Golden Delicious'. Badano sok świeży i przechowywany przez 3 i 6 h (temperatura pokojowa, z dostępem światła), z różną zawartością ekstraktu z róży (1, 2 i 3 g/l). W celu określenia stopnia brązowienia badanych soków jabłkowych podczas przechowywania oraz wpływu ekstraktu z dzikiej róży na zmianę brązowienia soków, prześledzono zmiany parametrów barwy $L^*a^*b^*$, parametru ΔE^*_{ab} , indeksu brązowienia (ΔBI) oraz wartości absorbancji przy długości fali 420 nm (ΔA_{420}).

Materiał badany

Materiałem badanym był mętny, niepasteryzowany sok jabłkowy z odmiany 'Golden Delicious, otrzymany w skali laboratoryjnej. Jabłka zakupiono w Rolniczo – Sadowniczym Gospodarstwie Doświadczalnym Przybroda Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu. Owoce zostały umyte, pokrojone na ćwiartki i usunięto z nich gniazda nasienne. Następnie wyciśnięto z nich sok w sokowirówce Easy Fruit 5813 firmy Moulinex. Otrzymany sok rozlano do butelek szklanych (250 ml) i dodano odpowiednią ilość ekstraktu z dzikiej róży (EDR), tak, aby dodatek ekstraktu wynosił 1, 2 i 3 g/l. Ekstrakt z DR zakupiono u producenta dodatków do żywności (Martin Bauer Group). Tak przygotowane próbki soków jabłkowych bez dodatku

i z dodatkiem badanego ekstraktu roślinnego, poddano analizie. Pozostałe próbki soków przechowywano przez 3 i 6 h w warunkach pokojowych (temp. $22 \pm 1^\circ\text{C}$) z dostępem światła. Doświadczenie przeprowadzono w dwukrotnym powtórzeniu.

Metody badań

Pomiar barwy

Pomiar barwy w systemie CIE $L^*a^*b^*$ wykonano przy użyciu trójbodźcowego kolorymetru Chroma Meter CR 310 (Konica Minolta). Pomiaru dokonano w świetle odbitym, dla obserwatora 2° z iluminantem D65.

Oznaczenie parametrów:

L^* - jasność w skali od 0 (ciało idealnie czarne) do 100 (ciało idealnie białe),

a^* - barwa od zielonej ($-a^*$) do czerwonej (a^*),

b^* - barwa od niebieskiej ($-b^*$) do żółtej (b^*).

Na podstawie parametrów L^* , a^* , b^* wyznaczono:

a) całkowitą różnicę barwy ΔE^*_{ab}

$$\Delta E^*_{ab} = [(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2]^{0,5}$$

b) indeks brązowienia BI [Buera i in., 1985]

$$BI = \frac{100(x-0,31)}{0,172}, \text{ gdzie}$$

$$x = \frac{(a+1,75L)}{5,64L+a-3,012b}$$

Pomiar absorbancji przy długości fali 420 nm (A_{420})

Oznaczenie wykonano w oparciu o metodykę Özoğlu i Bayindirli [2002], przy użyciu spektrofotometru Genesys 6 (Thermo Spectronic).

Zawartość ekstraktu ogólnego

Oznaczenie zawartości ekstraktu ogólnego przeprowadzono z wykorzystaniem refraktometru Abbego [PN-EN 12143:2000].

Pomiar pH

Pomiar pH wykonano przy wykorzystaniu pehametru S220 SevenCompact™ firmy Mettler Toledo.

Analiza statystyczna

Analizę statystyczną uzyskanych wyników przeprowadzono z wykorzystaniem pakietu Statistica 12.0 (StatSoft Polska). W celu porównania wartości średnich przeprowadzono jednoczynnikową lub dwuczynnikową analizę wariancji (ANOVA). Dla zweryfikowania istotności różnic pomiędzy wartościami średnimi zastosowano testy *post-hoc* Tukeya HSD oraz Dunnetta (z wydzieloną grupą kontrolną). Jako krytyczny poziom istotności przyjęto $\alpha = 0,05$. Prezentowane wyniki stanowią średnią z co najmniej 3 niezależnych oznaczeń dla każdej próbki.

Wyniki i dyskusja

Zawartość ekstraktu ogólnego oraz kwasowość pH soku jabłkowego zależą od cech odmianowych owoców, system ich uprawy oraz czasu i warunków ich przechowywania [Nadulski i in., 2012; Kudelka i Głuszek, 2014]. Zawartość ekstraktu (w stopniach Brix) w badanym soku jabłkowym wynosiła $12,5 \pm 0,1$, natomiast wartość pH $3,55 \pm 0,01$ (tabela 1). Zgodnie z wytycznymi Kodeksu Praktyki AIJN [2013], minimalny poziom zawartości ekstraktu ogólnego w soku jabłkowym powinien wynosić $10,0$ °Brix. Badana próbka soku spełniła te wymagania.

Tabela 1. Wpływ dodatku ekstraktu z dzikiej róży (EDR) na zawartość ekstraktu ogólnego i wartość pH nieprzechowywanego soku jabłkowego

Sok jabłkowy z ekstraktem z dzikiej róży (g/l)	Ekstrakt [°Brix]	pH
SJ*	12,5 ^a	3,55 ^a
SJ+EDR		
1	13,4 ^b	3,54 ^a
2	13,5 ^b	3,56 ^a
3	13,7 ^b	3,58 ^a

* - SJ – mętny sok jabłkowy; SJ + EDR – mętny sok jabłkowy z dodatkiem ekstraktu z dzikiej róży

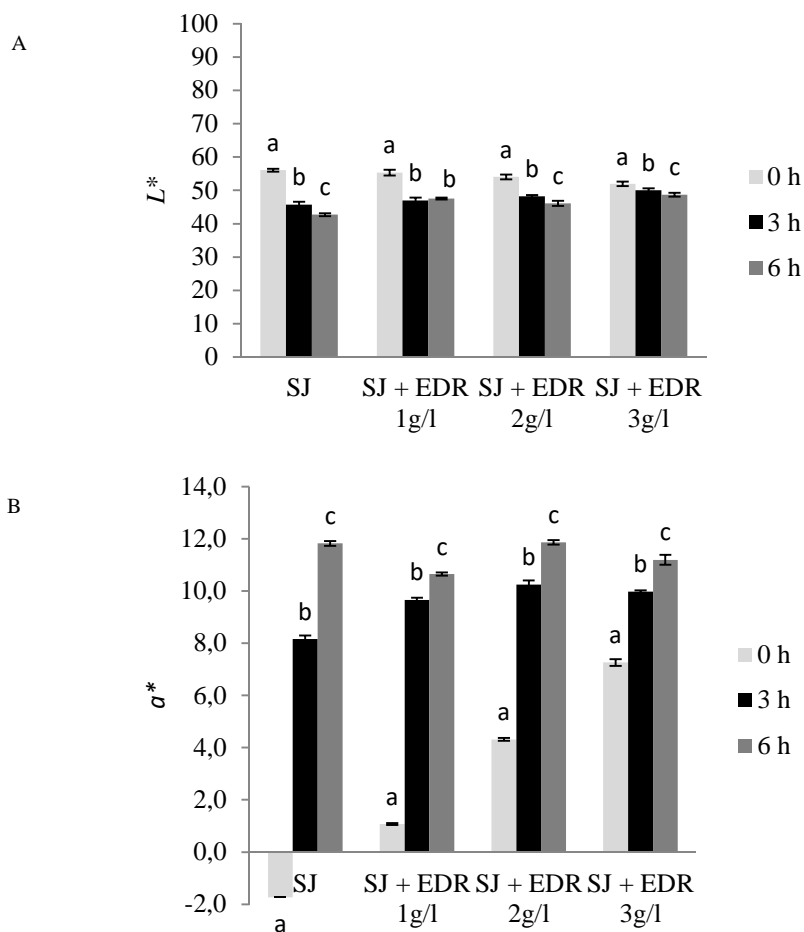
^{a-b} – wartości średnie w kolumnie, dla danego stężenia ekstraktu, oznaczone różnymi literami różnią się istotnie statystycznie, w porównaniu z sokiem jabłkowym bez dodatku ekstraktu (SJ) (test Dunnetta, $p < 0,05$)

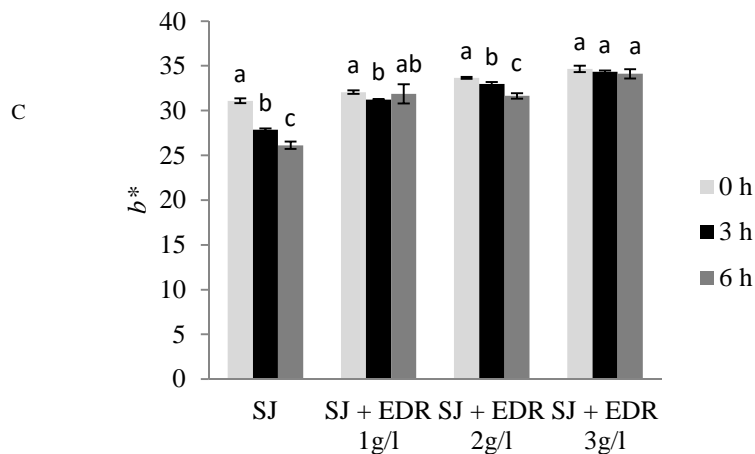
Zgodnie z danymi literaturowymi zawartość ekstraktu i wartość pH mętnego soku jabłkowym wynosi od $10,6$ do $13,1$ °Bx oraz od $3,31$ do $3,76$, odpowiednio [Nadulski i in., 2012; Klimczak i Ćwiklińska, 2013; Kudelka i Głuszek, 2014; Włodarska i in., 2016].

Dodatek ekstraktu z dzikiej róży (EDR) w ilości 1 g/l, wpłynął w istotny sposób na zawartość ekstraktu ogólnego soku jabłkowego (tabela 1). Zwiększenie dodatku EDR do 3 g/l spowodowało istotny statystycznie wzrost wartości tego parametru w soku, w porównaniu z sokiem jabłkowym bez ekstraktu ($p < 0,05$). Nie stwierdzono istotnego wpływu stężenia ekstraktu DR na wartość pH soku jabłkowego ($p > 0,05$). Podczas 6 h przechowywania badanych soków nie zaobserwowano istotnych statystycznie zmian zawartości ekstraktu oraz wartości pH (dane nieprezentowane).

W otrzymanym soku jabłkowym oraz sokach z dodatkiem ekstraktu z dzikiej róży zmierzono barwę w systemie CIE $L^*a^*b^*$. Próbką odniesienia był sok jabłkowy bez

dodatku ekstraktu (SJ). Nieprzechowywany SJ bez dodatku ekstraktu DR charakteryzował się zielono-żółtawym odcieniem barwy ($a^* = -1,73$, $b^* = 31,10$). Wartość parametru L^* wynosiła 56,01 (rysunek 1A). Przeprowadzona analiza wariancji ANOVA wykazała istotny wpływ stężenia ekstraktu z róży na parametry barwy soku jabłkowego ($p < 0,05$). Wraz ze wzrostem stężenia ekstraktu DR, w badanych sokach jabłkowych zwiększył się znacząco udział barwy czerwonej (a^*) (rysunek 1B). Zaobserwowano także nieznaczny wzrost udziału barwy żółtej (b^*), od około 3% (1 g EDR/l) do 11% (3 g EDR/l) (rysunek 1C).





Rysunek 1. Wpływ dodatku ekstraktu z dzikiej róży na parametry barwy L^* (A), a^* (B), b^* (C) przechowywanego soku jabłkowego

SJ, SJ + EDR – objaśnienia jak pod tabelą 1

a-c – wartości średnie, w obrębie danego soku, oznaczone różnymi literami różnią się istotnie statystycznie (test Tukeya, $p < 0,05$)

Kalisz i Mitek [2007] badali wpływ dodatku nektaru z dzikiej róży w ilości 25 i 50% na barwę soku jabłkowego. Sok jabłkowym z 25% dodatkiem nektaru różanego w porównaniu z sokiem jabłkowym odznaczał się mniejszą jasnością oraz większym udziałem barwy czerwonej (a^*) i żółtej (b^*). Zwiększenie udziału nektaru różanego w soku mieszanym wpłynęło na dalsze obniżenie jasności soku oraz zintensyfikowanie udziału barwy czerwonej i żółtej.

Zmierzone wartości parametrów $L^*a^*b^*$ w badanych próbkach soków pozwoliły na obliczenie całkowitej różnicy barwy (ΔE^*_{ab}). Ogólnie, wraz ze wzrostem stężenia badanych ekstraktów w próbkach soku jabłkowego odnotowano wzrost parametru ΔE^*_{ab} . W próbkach soku z dodatkiem 1, 2 i 3 g EDR/l wartość tego parametru wynosiła 3,2, 6,9 i 10,5, odpowiednio.

Najczęściej stosowanym parametrem w celu śledzenia zmian barwy zarówno miąższu jabłek, jak i mętnych soków jabłkowych jest parametrem L^* , a^* oraz ΔE^*_{ab} . Zazwyczaj obserwowane zmiany w sokach przebiegające w kierunku obniżenia jasności (parameter L^*), wzrostu udziału barwy czerwonej (parameter a^*) oraz wzrostu całkowitej różnicy barwy (ΔE^*_{ab}), są związane z brązowieniem tych produktów [Özoğlu i Bayindirli, 2002; Suh i in., 2011; Tochi i in., 2009; Klimczak i Ćwiklińska, 2013, Klimczak i Gliszczyńska-Świgło, 2017]. Zdaniem niektórych autorów najlepszym parametrem przy kontroli ciemnienia miąższu jabłek oraz mętnych soków jest parameter a^* oraz ΔE^*_{ab} [Rojas-Grau i in., 2006; Li i in., 2007]. Wyniki badań Eissa i in. [2014], Klimczak i

Gliszczyńska-Świgło [2017] oraz Klimczak [2017] wskazują także, że parameter BI (indeks brązowienia) oraz pomiar absorpcji przy długości fali 420 nm są dobrymi parametrami do śledzenia zmian barwy przechowywanego mętnego soku jabłkowego.

W niniejszej pracy, w celu określenia stopnia brązowienia badanych soków jabłkowych podczas przechowywania oraz wpływu ekstraktu z dzikiej róży na zmianę brązowienia soków, prześledzono zmiany parametrów barwy $L^*a^*b^*$, parametru ΔE^*_{ab} , indeksu brązowienia (ΔBI) oraz wartości absorpcji przy długości fali 420 nm (ΔA_{420}).

Podczas 6-godzinnego przechowywania badanych próbek soków jabłkowych bez i z dodatkiem EDR w temperaturze 22°C, nastąpiły istotne zmiany parametrów barwy. Wyniki badań zaprezentowano na rysunku 1. Przeprowadzona analiza wariancji ANOVA wykazała istotny wpływ czasu przechowywania oraz stężenia ekstraktu EDR na parametry barwy soku jabłkowego ($p < 0,05$).

W próbce kontrolnej SJ przechowywanej przez 6 h, stwierdzono istotne statystycznie zmiany wartości parametru L^* świadczącego o jasności. Po 6 h wartość parametru L^* uległa obniżeniu o około 24% (obniżenie L^* z 56,07 do 42,73; rysunek 1 A). Zaobserwowano także zmianę wartości parametru a^* w kierunku barwy czerwonej (wzrost a^* z -1,73 do 11,82; rysunek 1 B). Wraz ze wzrostem czasu przechowywania obserwowano również spadek intensywności barwy żółtej soku jabłkowego (rysunek 1 C).

Podobną tendencję zmian parametrów barwy L^* i a^* przechowywanego soku jabłkowego wykazały badania innych autorów [Tochi i in., 2009; Suh i in., 2011, Eissa i in., 2014; Klimczak i Gliszczyńska-Świgło, 2017]. W przypadku parametru b^* odnotowano wzrost jego wartości.

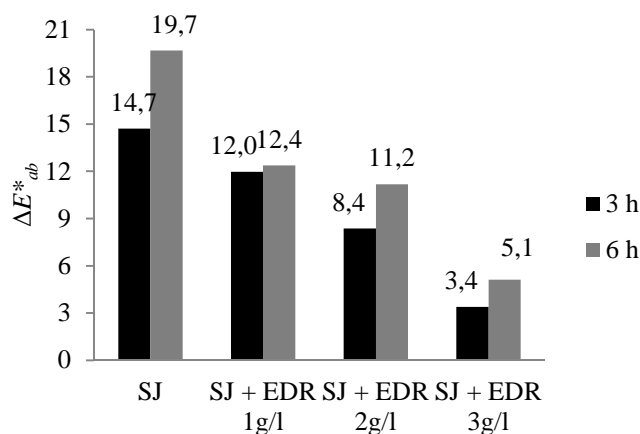
W próbkach soków jabłkowych z dodatkiem ekstraktu dzikiej róży tendencja zmian parametrów barwy była podobna, jednak ich intensywność, w porównaniu z próbką SJ, była mniejsza (rysunek 1). W próbkach soków z dodatkiem 1 i 2 g EDR/l po 6 h przechowywania wartość parametru L^* uległa obniżeniu o około 14%, natomiast

w próbce z dodatkiem 3 g EDR/l o około 6% (obniżenie L^* z 52,54 do 48,72; rysunek 1 A). Zaobserwowano także, że zwiększenie ilości dodatku EDR do soku jabłkowego wpłynęło na mniejszy wzrost parametru a^* w przechowywanych sokach. W próbce z EDR w ilości 3 g/l wartość parametru a^* wzrosła o około 50% (zmiana a^* z 7,26 do 11,19; rysunek 1 B). W próbce z dodatkiem 1 i 3 g EDR/l przechowywanych przez 6 h, nie stwierdzono istotnych statystycznie różnic wartości parametru b^* , natomiast w próbce z 2 g EDR/l wartość parametru b^* uległa nieznacznemu obniżeniu (o około 6%; rysunek 1 C).

Dodatek ekstraktu z dzikiej róży wpłynął na zmniejszenie brązowienia otrzymanego soku podczas przechowywania, o czym świadczy mniejsza dynamika zmian parametru a^* i mniejsze zmiany jasności w porównaniu z próbką kontrolną soku jabłkowego (SJ).

Mniejszą dynamikę zmian parametrów barwy przechowywanych przez 4 miesiące w temperaturze 20°C sokach mieszanych (rózno-jabłkowych) w porównaniu z sokiem jabłkowym wykazali w swoich badaniach Kalisz i Mitek [2007]. W soku z 50-procentowym udziałem nektaru z dzikiej róży, wraz ze wzrostem czasu przechowywania, obserwowano obniżenie jasności soków oraz nieznaczny wzrost udziału barwy czerwonej (a^*) i żółtej (b^*).

Na rysunku 2 przedstawiono zmiany parametru ΔE^*_{ab} w trakcie przechowywania badanych soków. Dla wszystkich próbek soków, wraz z wydłużeniem czasu przechowywania, obserwowano wzrost wartości tego parametru. Po 6 h przechowywania największą całkowitą różnicę barwy odnotowano dla próbek soku jabłkowego SJ bez dodatku ekstraktu DR ($\Delta E^*_{ab} = 19,7$). W sokach z dodatkiem ekstraktu z dzikiej róży zmiany całkowitej różnicy barwy były znacznie mniejsze w porównaniu z SJ, co pozwala na stwierdzenie, że ekstrakt ten hamował brązowienie soku jabłkowego. Wraz ze wzrostem ilości EDR w próbkach soku jabłkowego obserwowano mniejszą dynamikę zmian wartości parametru ΔE^*_{ab} w trakcie przechowywania.



Rysunek 2. Wpływ dodatku ekstraktów z dzikiej róży (EDR) na zmianę całkowitej różnicy barwy (ΔE^*_{ab}) przechowywanego soku jabłkowego
 SJ, SJ + EDR – objaśnienia jak pod tabelą 1

Na podstawie parametru ΔE^*_{ab} obliczono stopień hamowania brązowienia przechowywanych próbek soków jabłkowych przez ekstrakt dzikiej róży. Dodatek

ekstraktu z EDR w ilości 1, 2 i 3 g/l hamował brązowienie soku odpowiednio o około 37, 43 i 74% w stosunku do czystego soku jabłkowego.

W trakcie przechowywania, we wszystkich badanych próbkach soków, obserwowano wzrost wartości indeksu brązowienia (BI) (tabela 2). Największe zmiany wartości BI stwierdzono w soku jabłkowym bez dodatku EDR ($\Delta BI = 59,7$), co świadczyło o postępującym procesie brązowienia tej próbki soku. W próbkach pozostałych soków zaobserwowano mniejszą dynamikę zmian wartości BI w porównaniu z SJ. Ponadto, stopień brązowienia tych soków ulegał zmniejszeniu wraz ze zwiększeniem stężenia ekstraktu z dzikiej róży. Stopień hamowania brązowienia soku jabłkowego, do którego dodano EDR w ilości 1, 2 i 3 g/l wynosił odpowiednio 13, 31 i 64%, w stosunku do próbki kontrolnej soku jabłkowego (tabela 2).

Wpływ ekstraktu z dzikiej róży na zmiany brązowienia przechowywanych soków jabłkowych określono także poprzez zmierzenie zmiany absorbancji przy długości fali 420 nm (ΔA_{420}). W nieprzechowywanym soku jabłkowym bez dodatku EDR wartość absorbancji A_{420} wynosiła $0,130 \pm 0,002$. Wraz z wydłużeniem czasu przechowywania odnotowano wzrost wartości tego parametru (tabela 2). Po 6 h wartość absorbancji A_{420} próbki soku SJ wzrosła o około 1,6 raza ($\Delta A_{420} = 0,203$). Obserwowany wzrost tego parametru świadczył o postępującym procesie brązowienia soków.

Tabela 2. Wpływ dodatku ekstraktu z dzikiej róży (EDR) na zmianę indeksu brązowienia (ΔBI) oraz wartości absorbancji przy 420 nm (ΔA_{420}) przechowywanego soku jabłkowego

Sok jabłkowy z ekstraktem z dzikiej róży	ΔBI		ΔA_{420}	
	3 h	6 h	3 h	6 h
SJ	43,7	59,7	0,141	0,203
SJ+EDR (g/l)				
1	47,4	52,1	0,104	0,178
2	34,2	41,5	0,085	0,166
3	13,5	21,3	0,054	0,111

SJ, SJ + EDR – objaśnienia jak pod tabelą 1

Dodatek ekstraktu z dzikiej róży do soku jabłkowego wpłynął na mniejszą dynamikę zmian wartości absorbancji w sokach podczas przechowywania w porównaniu do próbki

soku kontrolnego (tabela 2). Przeprowadzona analiza wariancji ANOVA wykazała istotny wpływ czasu przechowywania oraz stężenia ekstraktu z róży (EDR) na wartość absorbancji 420 nm soku jabłkowego ($p < 0,05$). Po 6 h przechowywania w próbkach soków z dodatkiem EDR w ilości 1, 2 i 3 g/l wartość absorbancji wzrosła o około 79, 67 i 33%.

Na podstawie prześledzonych zmian parametru ΔA_{420} można stwierdzić, iż ekstrakt z dzikiej róży w ilości 3 g/l okazał się być najbardziej skuteczny w hamowaniu brązowienia soku jabłkowego trakcie jego przechowywania. Wyniki uzyskane na podstawie parametru A_{420} są porównywalne z wynikami uzyskanymi na podstawie analizy ΔE^*_{ab} i BI.

Zocca i in. [2011] wykazali, że ekstrakt z dzikiej róży skutecznie hamuje brązowienie karczocha i soku gruszkowego. Stopień inhibicji PPO wynosił odpowiednio 86,5 i 83,2%. Właściwości inhibicyjne ekstraktu z dzikiej róży związane były z obecnością w ekstrakcie kwasu askorbinowego oraz związków polifenolowych (epigalokatechina, galusan epikatechiny oraz kwas elagowy).

Stabilizacja barwy przechowywanych soków na bazie mętnego niepasteryzowanego soku jabłkowego, wynikająca z zahamowania enzymatycznego brunatnienia poprzez dodatek ekstraktów roślinnych, obserwowana była również w badaniach innych autorów [Suh i in. 2011; Eissa i in. 2014; Klimczak 2017; Klimczak i Gliszczyńska-Świąło 2017].

Podsumowanie

Dodatek ekstraktu z dzikiej róży do mętnego soku jabłkowego wpłynął w istotny sposób na parametry barwy soku. Przechowywane, przez 3 i 6 h w 22°C, soki z dodatkiem ekstraktu z dzikiej róży, charakteryzowały się większą stabilnością barwy w porównaniu z sokiem bez dodatku ekstraktu. Stopień hamowania brązowienia soku zależał od stężenia ekstraktu. Wykazano, że optymalnym stężeniem EDR wpływającym na hamowanie brązowienia soku jabłkowego, a tym samym na stabilizację barwy przechowywanego soku jest 3 g ekstraktu/l soku.

Literatura

29. AIJN (2013). Kodeks Praktyki do oceny soków owocowych i warzywnych, European Fruit Juice Association.
30. Buera M.P.P., Lozano R.D., Petriella C. (1985). Definition of color in the non-enzymatic browning process. *Die Farbe*. 32(33), 318-322.
31. Chen C.H., Chan H.C., Chu Y.T., Ho H.Y., Chen P.Y., Lee T.H., Lee C.K. (2009). Antioxidant activity of some plant extract towards xanthine oxidase, lipoxygenase and tyrosinase. *Molecules*. 14(8), 2947-2958.

32. Eissa H.A., Mostafa B.M., Barih G.F., Shouk A.A. (2014). Effect of extraction method of some natural extracts on enzymatic browning of apple juice. *International Journal of Food and Nutritional Science*. 3(6), 54-62.
33. Gasik A., Mitek M. (2012). Przydatność technologiczna owoców do produkcji soków, w: Przydatność owoców na poziomie gospodarstwa. Copyright by Ministerstwo Rolnictwa i Rozwoju Wsi. Druk Centrum Doradztwa Rolniczego w Brwinowie. Oddział w Radomiu, 18-39.
34. Kalisz S., Mitek M. (2007). Wpływ dodatku nektaru z dzikiej róży na właściwości przeciwtleniające i zawartość składników bioaktywnych w mieszanych sokach różano-jabłkowych. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*. 5(54), 194-202.
35. Kim Y.J., Uyama H. (2005). Tyrosinase inhibitors from natural and synthetic sources: structure, inhibition mechanism and perspective for the future. *Cellular and Molecular Life Sciences*. 62(15), 1707-23.
36. Klensporf-Pawlik D., Klimczak I., (2013). Differences in phenolics content and antioxidant activity in selected flowering plants (angiosperms), w: *Current trends in Commodity Science: Food bioactive compounds* (red. D. Gwiazdowska, K. Kluczyńska), Poznan University of Economics, Poznań, s. 84-96.
37. Klimczak I. (2017). Towaroznawcze aspekty kształtowania barwy soków na przykładzie mętnego soku jabłkowego. Wyd. UEP, Poznań.
38. Klimczak I., Ćwiklińska P. (2013). The effect of pomegranate juice on enzymatic browning of cloudy apple juice, *Current Trends in Commodity Sciences: Analysis and Consumer Acceptance of Food Products*. Poznan University of Economics Faculty of Commodity Science, 125-139.
39. Klimczak I., Gliszczyńska-Świątło A. (2017). Green tea extract as an anti-browning agent for cloudy apple juice. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 97, 1420-1426.
40. Kudełka W., Głuszek D. (2014). Quality assessment of apple juices and consumer acceptance thereof. *Towaroznawcze Problemy Jakości. Polish Journal of Commodity Science*. Vol. 2, 108-116.
41. Loizzo M.R., Tundis R., Menichini F. (2012). Natural and synthetic tyrosinase inhibitors as antibrowning agents: an update. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. 11, 378-397.
42. Nadpal J.D., Lesjak M.M., Šibul F.S., Anačkov G.T., Četojević-Simin D.D., Mimica-Dukić I.N. (2016). Comparative study of biological activities and phytochemical composition of two rose hips and their preserves: *Rosa canina* L. and *Rosa arvensis* Huds. *Food chemistry*. 192, 907-914.
43. Nadulski R., Strzałkowska K., Kobus Z. (2012). Wpływ czasu i warunków przechowywania wybranych odmian jabłek na wydajność tłoczenia. *Inżynieria Rolnicza*. 3, 157-164.
44. Oszmiański J., Wolniak M., Wojdyło A., Wawer I. (2007). Comparative study of polyphenolic content and antiradical activity of cloudy and clear apple juices. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 87(4), 573-579.
45. Özoğlu H., Bayindirli A. (2002). Inhibition of enzymatic browning in cloudy apple juice with selected antibrowning agents. *Food Control*. 13, 213-221.
46. PN-EN 12143:2000. Soki owocowe i warzywne – Oznaczanie zawartości substancji rozpuszczalnych metodą refraktometryczną.
47. Rojas-Grau M.A., Sobrino-Lopez A., Tapia M.S. and Martin-Belloso O. (2006). Browning inhibition in fresh-cut 'fuji' apple slices by natural anti-browning agents. *Journal of the Food Science*. 71(1), 59-65.
48. Singleton V.L., Rossi J.A.J. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagent. *American Journal of Enology and Viticulture*. 16, 144-158.
49. Suh H.-J., Park S., Park S. (2011) Inhibition of browning fresh apple juices by natural phytochemicals from *Rumex crispus* L. seed. *Journal of the Korean Society for Applied Biological Chemistry*. 54(4), 524-530.
50. Tochi B.N., Wang Z., Xu S.Y., Zhang W. (2009). Effect of stem bromelain on the browning of apple juice. *American Journal of Food technology*. 4(4), 146-153.
51. Włodarska K., Pawlak-Lemańska K., Górecki T., Sikorska E. (2016). Perception of Apple juice: A comparison of physicochemical measurements, descriptive analysis and consumer responses. *Journal of Food Quality*. 39(4), 351-361.
52. Zocca F., Lomolino G., Lante A. (2011). Dog rose and pomegranate extracts as agents to control enzymatic browning. *Food Research International*. 44(4), 957-963.

JOANNA BANAŚ¹, KATARZYNA PIŁOT¹, KRZYSZTOF SURÓWKA¹,
IRENEUSZ MACIEJASZEK¹, MAGDALENA WITEK¹

¹*Katedra Chłodnictwa i Koncentratów Spożywczych, Wydział Technologii Żywności,
Uniwersytet Rolniczy w Krakowie*

CHARAKTERYSTYKA SPEKTROFLUORYMETRYCZNA WYBRANYCH PRODUKTÓW PRZEKĄSKOWYCH

Wstęp

Produkty przekąskowe są spożywane głównie między posiłkami, często poza domem. Konsumenci sięgają po nie w celu szybkiego zaspokojenia głodu lub pod wpływem impulsu wywołanego zabiegami marketingowymi [Derewiaka i Górska, 2011]. Największą grupę wśród tych produktów stanowią chipsy i chrupki. Te ostatnie produkowane są na drodze ekstruzji z mąk i gryśów zbożowych, głównie kukurydzy. W celu poprawy walorów odżywczych chrupkek dodaje się do nich substancje bioaktywne oraz błonnik pokarmowy, co dodatkowo nie wpływa negatywnie na wygląd i teksturę otrzymywanych produktów [Peksa i in., 2016]. Często wzbogaca się je także kwasami tłuszczowymi z grupy omega-3 [Rogalski i in., 2016].

Oprócz wspomnianych chrupkek i chipsów, przekąskami często stają się różne orzechy, nasiona, suszone owoce czy batoniki musli [Derewiaka i Górska, 2011]. Stanowią one zdrowszą alternatywę dla tradycyjnych słodczy i słonych przekąsek oraz zawierają szereg substancji o działaniu prozdrowotnym. Suszone owoce oraz orzechy są bogate w witaminy, błonnik pokarmowy, polifenole, składniki mineralne i nienasycone kwasy tłuszczowe. Substancje te wpływają korzystnie na zdrowie człowieka poprzez redukcję poziomu cholesterolu LDL we krwi, poprawę profilu lipidowego, czy przeciwdziałanie chorobom serca [Schlörmann i in., 2015].

Jednakże produkty te mogą być również źródłem substancji niebezpiecznych dla zdrowia. Suszone owoce i niektóre orzechy są podatne na zakażenia grzybami z rodzaju *Aspergillus*, *Fusarium*, *Penicillium* i *Alternaria* [Asgar i in., 2017]. Powstające na skutek tego aflatoksyny są genotoksyczne i kancerogenne. Jak dotąd nie określono dla nich bezpiecznej dawki, a jedynie ich zawartość informuje o wielkości ryzyka [Kabak, 2016]. Z kolei w przypadku orzechów, zwłaszcza łuskanych, niebezpiecznymi związkami są produkty utlenienia tłuszczów, w tym MDA. Często stosowane prażenie orzechów, oprócz nadawania im pożądanых cech sensorycznych, powoduje zwiększenie podatności na utlenianie [Schlörmann i in., 2015].

Celem prowadzonych badań było scharakteryzowanie stabilności przechowalniczej wybranych produktów przekąskowych z różnych grup przy wykorzystaniu do tego celu możliwości jakie daje spektrofлуometry.

Materiał i metody

Materiałem badawczym były dostępne na lokalnym rynku: chipsy ziemniaczane, chrupki kukurydziane z dodatkiem orzeszków ziemnych, łuskane orzechy włoskie, pestki dyni, migdały, mieszanka studencka (orzechy arachidowe smażone, rodzyнки, orzechy nerkowca, orzechy laskowe), chipsy buraczane, chipsy warzywne oraz chlebek musli amarantusowy.

Produkty te poddano analizie spektrofлуometrycznej bezpośrednio po otwarciu opakowania i po 4 tygodniach przechowywania w $20 \pm 1^\circ\text{C}$, bez dostępu światła. Widma fluorymetryczne rejestrowano za pomocą spektrofлуometru Varian Cary Eclipse, stosując lampę Xe jako źródło promieniowania wzbudzającego. Szerokość szczelin monochromatorów wynosiła 5 nm. Pomiarów dokonywano w kuwecie kwarcowej o długości drogi optycznej 1 cm, w geometrii front-face. Przed pomiarem porcję produktu rozdrabniano i umieszczano w kuwecie.

Charakterystyki spektrofлуometrycznej badanych produktów dokonywano wykorzystując następujące zakresy spektralne:

- λ_{ex} 382 nm, λ_{em} 400÷750 nm – fluorescencja wtórnych produktów utleniania tłuszczów [Veberg i in., 2006], karotenoidów [Lai i in., 2007] oraz chlorofili i feofityn [Sikorska i in., 2008],
- λ_{ex} 280÷360 nm, λ_{em} 420 nm - fluorescencja tokoferoli [Sikorska i in., 2008],
- λ_{ex} 347 nm, λ_{em} 400÷600 nm - fluorescencja prekursorów akrylamidu [Morales i Jiménez-Pérez, 2001; Ciesarová i in., 2009],
- λ_{ex} 360 nm, λ_{em} 380÷600 nm – fluorescencja aflatoksyn [Kabak, 2016].

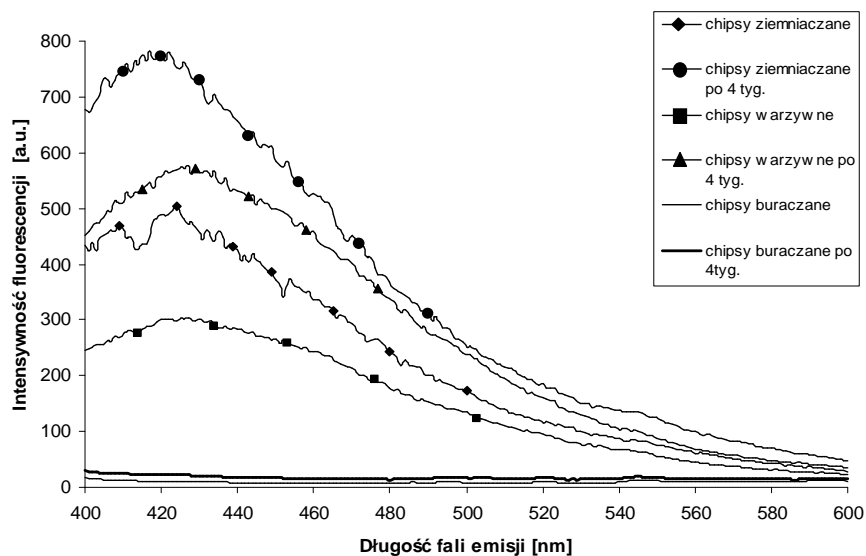
Wyniki i dyskusja

Ze względu na różnice w składzie oraz wynikające z tego możliwości powstawania (w czasie produkcji lub przechowywania) związków potencjalnie niebezpiecznych dla zdrowia konsumentów, wybrane do badań produkty analizowano w różnych zakresach spektralnych. Dokonano też pewnego ich pogrupowania, aby ułatwić omawianie otrzymanych wyników, na następujące grupy; chipsy, orzechy i suszone owoce, a chrupki kukurydziane i chlebek amarantusowy były rozpatrywane jako osobne produkty.

W przypadku chipsów (ziemniaczane, buraczane i warzywne) śledzono przekształcenia zachodzące we frakcji tłuszczowej oraz zmiany zawartości prekursorów akrylamidu, gdyż produkty te ze względu na używane surowce i

technologię produkcji mogą być źródłem tego związku. Zachodzenie procesów o charakterze oksydacyjnym w tłuszczach widoczne były jako pasmo z maksimum ok. 460 nm przypisywane fluorescencji dialdehydu malonowego (MDA) [Veberg i in., 2006]. Największy wzrost intensywności fluorescencji w tym zakresie odnotowano dla chipsów warzywnych, natomiast chipsy buraczane, mimo że wyprodukowane z udziałem oleju słonecznikowego, okazały się być najbardziej odporne na utlenianie tłuszczów. Nie stwierdzono również różnic zawartości karotenoidów i chlorofili w tej grupie produktów pomiędzy próbkami świeżymi i przechowywanymi.

Kolejnym zakresem długości fali emisji wybranym do scharakteryzowania zmian przechowalniczych chipsów był 400÷600 nm, który umożliwia prześledzenie różnic zawartości prekursorów akrylamidu (przede wszystkim asparaginy). Na rys. 1 przedstawiono widma zarejestrowane w tym zakresie długości fali dla trzech typów chipsów, tuż po otwarciu opakowania i po czterech tygodniach przechowywania w temperaturze $20\pm 1^\circ\text{C}$.



Rys. 1. Widma emisyjne chipsów w zakresie fluorescencji prekursorów akrylamidu

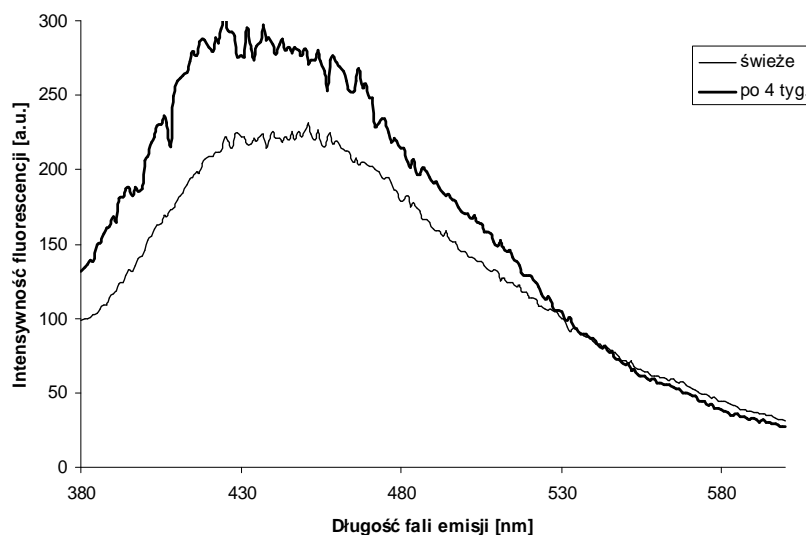
W przypadku świeżych chipsów ziemniaczanych i warzywnych widoczna jest obecność pewnej ilości związków, z których potencjalnie może powstawać akrylamid. Po czterech tygodniach przechowywania intensywność tego pasma wzrastała, a wzrost ten był bardziej intensywny dla chipsów ziemniaczanych. Obserwowane zmiany mogą sugerować stopniowy rozkład akrylamidu powstałego na etapie produkcji, co było już wcześniej obserwowane w trakcie badań przechowalniczych produktów ze zwiększoną zawartością akrylamidu [Hoenicke i in., 2004].

Chipsy buraczane, ze względu na śladową zawartość asparaginy w surowcu, nie wykazywały w zasadzie zmian intensywności w tym zakresie (obserwowana intensywność fluorescencji była na bardzo niskim poziomie), co w połączeniu z ich odpornością na procesy oksydacyjne frakcji tłuszczowej, wskazuje na ten produkt jako dobry wybór z punktu widzenia zdrowego odżywiania.

Chrupki kukurydziane, ze względu na dodatek orzeszków ziemnych, zostały przeanalizowane w zakresie długości fali odpowiadający zmianom frakcji tłuszczowej oraz fluorescencji aflatoksyn. Produkt ten wykazywał pewną podatność na utlenianie tłuszczów w nim obecnych, ale ich zakres był nieco mniejszy niż w przypadku chipsów ziemniaczanych.

Według danych dostępnych w literaturze aflatoksyny oznaczane w roztworze metanolu przy fali wzbudzenia 365 nm osiągają maksimum fluorescencji przy długości fali emisji 425 nm dla aflatoksyny B₁ i B₂ oraz 450 nm dla G₁ i G₂ [Yao. i in., 2010]. Wyniki innych badań nad obecnością tych związków w orzechach ziemnych stwierdzają obecność pasma fluorescencji w zakresie długości fali emisji ok. 450 nm, przy podobnej długości fali wzbudzenia [Luna i in. 2013].

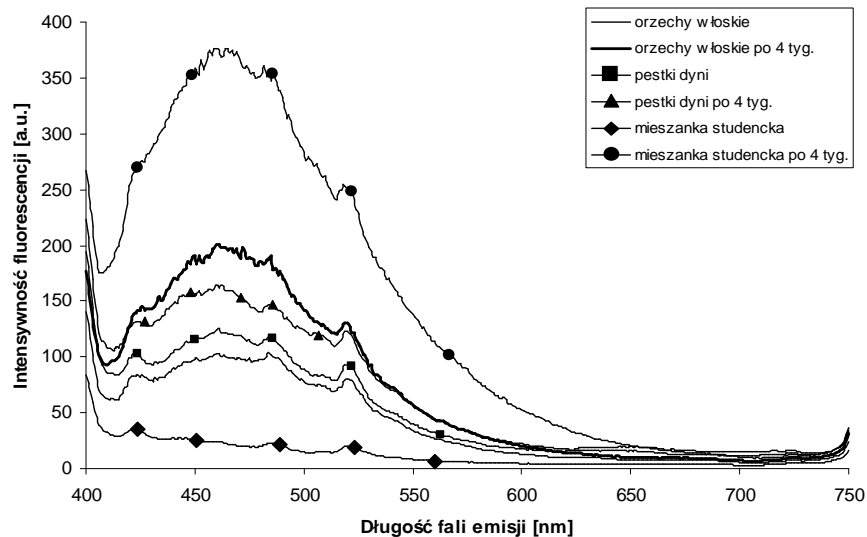
W przypadku badanych chrupek z dodatkiem orzeszków ziemnych stwierdzono obecność pasma fluorescencji w tym zakresie, co przedstawiono na rys. 2. Po czterech tygodniach przechowywania zaobserwowano dosyć znaczny wzrost intensywności fluorescencji.



Rys. 2. Widma emisyjne w zakresie fluorescencji aflatoksyn, zarejestrowane dla chrupek kukurydzianych z dodatkiem orzeszków ziemnych

Aflatoksyny zazwyczaj pojawiają się w czasie uprawy i zbioru, a wzrostowi ich zawartości w trakcie przechowywania sprzyja m.in. dostęp tlenu i wilgotność [Kabak, 2016], a te dwa czynniki były obecne w środowisku składowanych produktów, charakteryzowanych w ramach prezentowanych badań.

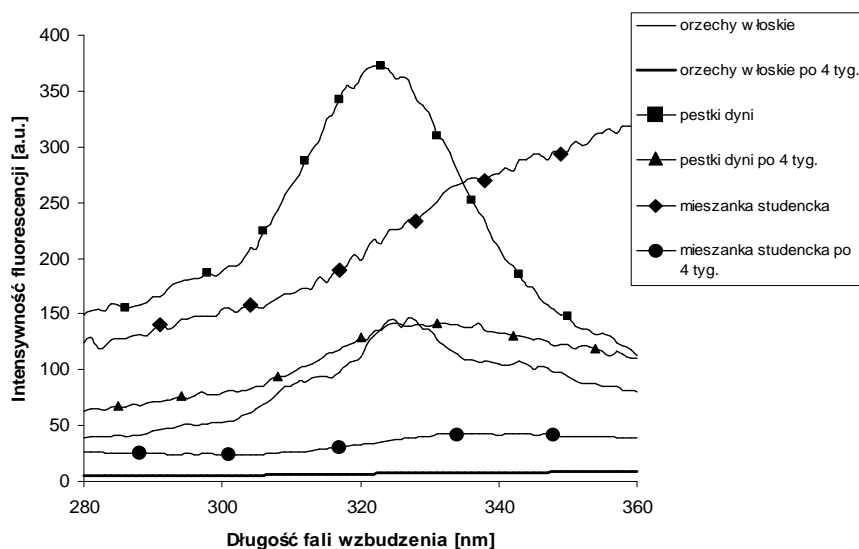
Kolejną grupą analizowanych wyrobów przekąskowych były orzechy i suszone owoce. Rysunek 3 przedstawia zmiany intensywności fluorescencji w zakresie długości fali 400–750 nm (λ_{ex} 382 nm) dla kilku wybranych produktów z tej grupy.



Rys. 3. Widma emisyjne w zakresie fluorescencji wtórnych produktów utleniania tłuszczów zarejestrowane dla orzechów, pestek dyni i mieszanki studenckiej

Przechowywanie tej grupy produktów w temperaturze $20\pm 1^{\circ}\text{C}$ i w warunkach pewnej dostępności tlenu spowodowało dosyć znaczne przyspieszenie zmian o charakterze oksydacyjnym tłuszczów w nich obecnych. Zakres tych przemian był uzależniony od składu produktu, w tym obecności substancji o działaniu pro- i antyoksydacyjnym. Największą podatnością na utlenianie cechowała się mieszanka studencka, ze względu na dużą zawartość orzechów bogatych w nienasycone kwasy tłuszczowe, a najmniejszą pestki z dyni, co przypuszczalnie wynika z obecności w tych ostatnich związków o działaniu antyoksydacyjnym.

W związku z obecnością antyoksydantów w tej grupie produktów przekąskowych, przeanalizowano zmiany intensywności pasm fluorescencji w zakresie spektralnym przypisanym tokoferolom. Widma zarejestrowane w tym zakresie dla omawianych produktów przedstawiono na rysunku 4.



Rys. 4. Widma wzbudzenia w zakresie fluorescencji tokoferoli zarejestrowane dla orzechów, pestek dyni i mieszanki studenckiej

Po czterotygodniowym okresie przechowywania spadek intensywności fluorescencji tokoferoli wskazywał na niemal całkowity rozkład tych związków, zwłaszcza dla łuskanych orzechów włoskich. Obserwowany różny spadek intensywności fluorescencji tokoferoli i jego porównanie do różnic obserwowanych w zakresie zmian oksydacyjnych wskazuje na aktywny udział tokoferoli w reakcjach z aktywnymi formami tlenu i pierwotnymi produktami utleniania tłuszczów, ograniczając ilości powstającego MDA, w zależności od wykazywanego przez poszczególne produkty potencjału antyoksydacyjnego.

Chlebek musli amarantusowy, podobnie jak chipsy buraczane, okazał się odporny na zmiany o charakterze oksydacyjnym. Stwierdzono w jego przypadku obecność pewnych ilości akrylamidu i jego prekursorów, jednak intensywność ich fluorescencji była znacząco niższa niż w przypadku chipsów ziemniaczanych i warzywnych. Odnotowano także niewielki wzrost intensywności fluorescencji prekursorów akrylamidu po przechowywaniu, wskazujący na stopniową degradację tego związku. Niewielkie zmiany intensywności fluorescencji w obu wspomnianych zakresach spektralnych wskazują ten produkt, razem z chipsami buraczanymi, jako zdrową przekąskę do regularnego spożywania.

Podsumowanie

Analiza spektrofluorymetryczna w układzie front-face, nawet bez stosowania kalibracji, umożliwia szacunkowe scharakteryzowanie zmian, jakim podlegają

produkty przekąskowe w trakcie ich przechowywania. Dużą zaletą tej techniki jest jej szybkość oraz prostota zarówno przygotowania materiału do badań, jak i samego pomiaru. Ponadto cały szereg substancji bioaktywnych oraz produktów powstających w trakcie produkcji i przechowywania wykazuje fluorescencję, co pozwala na dosyć dokładną charakterystykę poszczególnych produktów.

Ze względu na niewielki obserwowany zakres zmian fluorescencyjnych zachodzących podczas składowania chipsów buraczanych i chlebka amarantusowego, można je zaliczyć do najbardziej stabilnych produktów. Przekąski te, ze względu na znikome ilości akrylamidu i wtórnych produktów utleniania tłuszczów, stanowią smaczny i zdrowy wybór dla konsumenta.

Orzechy, mieszanka studencka, pestki dyni i migdały, powinny być spożywane bezpośrednio po otwarciu opakowania, ze względu na ich dużą podatność na zmiany oksydacyjne, mimo wysokiej zawartości przeciwutleniaczy. Dodatkowo produkty zawierające orzeszki ziemne mogą być potencjalnym źródłem zagrożenia aflatoksynami, stąd należy zwracać szczególną uwagę na warunki przechowywania takich produktów po otwarciu opakowania.

W przypadku chipsów ziemniaczanych i warzywnych, powinno się je spożywać z umiarem, szczególnie przez dzieci i młodzież, gdyż produkty te zawierają pewne ilości akrylamidu oraz ich frakcja tłuszczowa jest stosunkowo podatna na utlenianie. Ponadto zawartość tłuszczów, szczególnie w przypadku chipsów ziemniaczanych jest zbyt wysoka, by rekomendować ten produkt do regularnego spożywania.

Literatura

1. Asghar M. A., Ahmed A., Zahir E., Asghar M. A., Iqbal J., Walker G., (2017). Incidence of aflatoxins contamination in dry fruits and edible nuts collected from Pakistan, *Food Control*, 78, 169–175.
2. Ciesarová Z., Kukurová K., Bednáriková A., Morales J. F., (2009). Effect of heat treatment and dough formulation on the formation of Maillard reaction products in fine bakery products – benefits and weak points, *Journal of Food and Nutrition Research*, 48, 20–30.
3. Derewiaka D., Górská J., (2011). Skład frakcji tłuszczowej wybranych produktów przekąskowych. *Zeszyty Problemowe Postępów Nauk Rolniczych*, 569, 61–72.
4. Hoenicke K., Gatermann R., Harder W., Harting L., (2004). Analysis of acrylamide in different foodstuffs using liquid chromatography – tandem mass spectrometry and gas chromatography – tandem mass spectrometry, *Analytica Chimica Acta* 520, 207–215.
5. Kabak B., (2016). Aflatoxins in hazelnuts and dried figs: Occurrence and exposure assessment. *Food Chemistry*, 211, 8–16.
6. Lai A., Santangelo E., Soressi G.P., Fantoni R., (2007). Analysis of the main secondary metabolites produced in tomato (*Lycopersicon esculentum*, Mill.) epicarp tissue during fruit ripening using fluorescence techniques. *Postharvest Biology and Technology* 43, 335–342.
7. Luna A. S., Luiz R. A., Lima I. C. A., Marco P. H., Valderrama P., Boqué R., Ferré J., (2013). Simultaneous determination of aflatoxins B₂ and G₂ in peanuts using spectrofluorescence coupled with parallel factor analysis. *Analytica Chimica Acta*, 778, 9–14
8. Morales F. J., Jiménez-Pérez S., (2001). Free radical scavenging capacity of Maillard reaction products as related to colour and fluorescence, *Food Chemistry*, 72, 119–125.
9. Peksa A., Kita A., Jariene E., Danilcenko H., Gryszkin A., Figiel A., Kulaitiene J., Cerniauskiene J., Aniolowska M., (2016). Amino acid improving and physical qualities of extruded corn snacks using

- flours made from Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus*), amaranth (*Amaranthus cruentus* L.) and pumpkin (*Cucurbita maxima* L.). *Journal of Food Quality*, 39, 580–589.
10. Rogalski M., Nowak K., Fiedor P., Sztark A., (2016). Corn crisps enriched in omega-3 fatty acids sensory characteristic and its changes during storage. *Journal of American Oil Chemists' Society*, 93, 1275–1287.
 11. Schlörmann W., Birringer M., Böhm V., Löber K., Jahreis G., Lorkowski S., Müller A. K., Schöne F., Gleis M., (2015). Influence of roasting conditions on health-related compounds in different nuts, *Food Chemistry*, 180, 77–85.
 12. Sikorska E., Khmelinskii I.V., Sikorski M., Caponio F., Bilancia M.T., Pasqualone A., Gomes T., (2008). Fluorescence spectroscopy in monitoring of extra virgin olive oil during storage. *International Journal of Food Science & Technology* 43, 52–61.
 13. Veberg A., Vogt G., Wold J.P. (2006): Fluorescence in aldehyde model systems related to lipid oxidation. *LWT*, 39, 562-570.
 14. Yao H., Hruska Z., Kincaid R., Brown R., Cleveland T., Bhatnagar D., (2010). Correlation and classification of single kernel fluorescence hyperspectral data with aflatoxin concentration in corn kernels inoculated with *Aspergillus flavus* spores. *Food Additives and Contaminants*, 27(5), 701–709

PARTNERZY I SPONSORZY

**Makarony
Polskie**

<https://www.makarony.pl/>



<http://www.biogenet.pl/>



<http://www.sokipawlowski.pl/>



Ergo Solutions
30-438 Kraków, ul. Borkowska 9/6
Tel. 12 445 64 49
email: info@ergosol.pl
<http://www.ergosol.pl/>

Firma Ergo Solutions została utworzona w 2002 roku. Jej głównym celem działalności jest świadczenie kompleksowych usług dla przedsiębiorstw w branży spożywczej. Ergo Solutions to zespół specjalistów z wieloletnim stażem w przemyśle spożywczym. W skład zespołu wchodzi: audytorzy, konsultanci, trenerzy oraz praktycy i teoretycy przemysłu spożywczego. W zależności od potrzeb, do współpracy z klientem dobierany jest interdyscyplinarny zespół osób o uzupełniających się kompetencjach. Oferta Ergo Solutions dotyczy w szczególności: badań i doskonalenia wyrobów oraz wdrażania i doskonalenia systemów zarządzania.



**Ministerstwo Nauki
i Szkolnictwa Wyższego**

XIII Konferencja Naukowa z cyklu ŻYWNOŚĆ XXI WIEKU „ŻYWNOŚĆ A SKŁADNIKI BIOAKTYWNE”, 24-25 września 2018 - zadanie finansowane w ramach umowy 774/P-DUN/2018 ze środków Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego przeznaczonych na działalność upowszechniającą naukę.