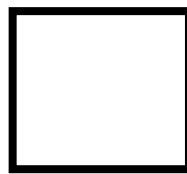

Uwarunkowania **BEZPIECZEŃSTWA** i jakości żywności w Polsce

pod redakcją

Wojciecha Truszkowskiego

Patrycji Róży Sosny



Uwarunkowania bezpieczeństwa i jakości żywności w Polsce

Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie

Uwarunkowania bezpieczeństwa i jakości żywności w Polsce

pod red.

Wojciech Truszkowski

Patrycja Róża Sosna

Olsztyn 2019

Uwarunkowania bezpieczeństwa i jakości żywności w Polsce

Monografia naukowa pod redakcją

dr. Wojciecha Truszkowskiego

mgr inż. Patrycji Róży Sosny

Recenzenci:

dr hab. inż. Małgorzata Tańska, prof. UWM

dr n. wet. inż. Magdalena Polak-Śliwińska

Korekta:

Irmina Sitkowska

Nakład: 30 egz.

14 ark. wyd.

ISBN 978-83-956298-0-8

© Katedra Agrotechnologii, Zarządzania Produkcją Rolniczą i Agrobiznesu,
Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie

Druk: Zakład Poligraficzny Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie

Olsztyn 2019

Monografia zawiera teksty artykułów nadesłane przez uczestników 48 MSKN „Międzynarodowe Seminarium Kół Naukowych. Koła naukowe szkołą twórczego działania” i to autorzy ponoszą odpowiedzialność za przedstawione treści.

SPIS TREŚCI

WPROWADZENIE	7
ROZDZIAŁ I WPLYW KONSUMENTÓW NA BEZPIECZEŃSTWO I JAKOŚĆ ŻYWNOSCI	
KATARZYNA MAGDALENA KRUPIŃSKA, OLIWIA BEJNAR Ocena konsumencka jogurtu koziego wzbogaconego w nasiona szałwii hiszpańskiej	11
OLIWIA ANTOSIK, JAN PAWLACZEK Ocena konsumencka mleczek roślinnych przez młodych dorosłych z Polski i Niemiec	19
MARCELINA WILCZAK Postawy i zachowania konsumentów wybranych krajów europejskich wobec produktów fermentowanych	29
PAULINA JANDUŁA Porównanie jakości sensorycznej jaj kurzych w zależności od miejsca pozyskania .	40
IZABELLA MATUSZEWSKA, PAULINA MISIAK Czy zawartość tłuszczu ma wpływ na jakość sensoryczną pączków?	50
KARINA ZYWAR, BARTŁOMIEJ BIELAWA, KORNELIA BINIEK Jadalne grzyby dziko rosnące - preferencje konsumenckie studentów	61
ROZDZIAŁ II RYNKOWE ASPEKTY BEZPIECZEŃSTWA ŻYWNOSCI W POLSCE	
AGNIESZKA MAŁGORZATA BĄKOWSKA, ELŻBIETA NIJAKA, AGNIESZKA STRAŻYŃSKA Porównanie jakości przekąsek warzywnych	75
ZUZANNA MSTOWSKA Różnice w cechach jakościowych pomiędzy napojami roślinnymi handlowymi oraz wytworzonymi domowymi sposobami	88
BARTŁOMIEJ BIELAWA, KARINA ZYWAR, SYLWIA GOLISZEWSKA Wykorzystanie ziemniaka jadalnego jako produktu regionalnego w agroturystyce	95
KINGA ZARĘBSKA, PATRYCJA SIEBIERSKA Marnowanie żywności wśród mieszkańców Polski.....	106
MARTYNA RYCHTA Stan mikrobiologiczny serów dojrzewających w ostatnich dniach terminu przydatności do spożycia	118
MONIKA MAŁKOWSKA, DAGMARA POGORZELSKA Rynek mlecznych produktów bezlaktozowych a świadomość konsumentów	128
ROZDZIAŁ III TECHNOLOGICZNE UWARUNKOWANIA BEZPIECZEŃSTWA ŻYWNOSCI W POLSCE	
ŁUKASZ BIERNACIAK, KATARZYNA RYCHCIK Ocena wpływu metod produkcji wybranych produktów na bazie jabłek na ich jakość	139

MARCIN MERCHEL	
Wpływ dodatku mąki konopnej na jakość chleba pszennego.....	146
JOANNA GAJEWSKA	
Antybiotykooporność paciorkowców <i>Enterococcus</i> wyizolowanych z mleka surowego i serów	155
ALEKSANDRA MAŁACHWIEJ, ARKADIUSZ ZAKRZEWSKI, URSZULA ZARZECKA	
Oporność <i>Listeria monocytogenes</i> na chlorek benzalkoniowy i chlorek kadmu ...	164
PATRYK WIŚNIEWSKI, IZA GÓRECKA	
Ocena stopnia zanieczyszczenia mleka i produktów mleczarskich aflatoksyną M1	175
SYLWIA MICHAŁOWSKA, EWA WAŁOWSKA, ANATOLI SEMENTOVICH	
Biotechnologiczna synteza nanocząstek	184
PIOTR JAKUĆ	
Ocena możliwości otrzymywania wegańskich lodów na bazie napojów orzechowych	193

ROZDZIAŁ IV ŻYWNOSĆ FUNKCJONALNA JAKO ELEMENT BEZPIECZEŃSTWA ŻYWNOSCI

KAROL CZYSZPAK	
Zawartość związków fenolowych i aktywność przeciwutleniająca kaw zbożowych	205
NATALIA MIKOŁAJCZAK	
Karotenoidy w olejach tłoczonych na zimno	215
KLAUDIA MARTYNOW	
Czynniki wpływające na stabilność oksydacyjną olejów tłoczonych na zimno i możliwość jej poprawy poprzez zastosowanie naturalnych przeciwutleniaczy ...	226
ARKADIUSZ JÓZEF ZAKRZEWSKI, URSZULA ZARZECKA	
Antimicrobial properties of plant essential oils against <i>Listeria</i> sp. isolated from foodstuff	235
URSZULA ZARZECKA, ARKADIUSZ ZAKRZEWSKI, SZYMON DUBIEJKO	
Inhibition of multi-drug resistant bacteria and food-borne pathogens by antibacterial substances produced by <i>Pseudomonas</i> sp. strains isolated from fish and shrimps .	243
MONIKA RETAJCZYK	
Synteza i właściwości estrów kurkuminy.....	254
ŁUKASZ SAŁACIŃSKI	
Ekstrakcja kurkuminy z kłączy ostryżu długiego (<i>Curcuma longa</i> L.).....	264
MAGDALENA JAŚKIEWICZ	
Edukacja rodzin w zakresie żywienia	274
ANETA HOKSA	
Określenie profilu mikrobiologicznego przydomowej winnicy na terenie Rzeszowa	283

Wprowadzenie

Bezpieczeństwo żywności jest jednym z kluczowych mierników komfortu życia. Obok fizycznej i ekonomicznej dostępności do żywności, wagi nabrały zagadnienia dotyczące jej jakości. Jakość rozumiana jest już jednak nie tylko przez pryzmat braku substancji szkodliwych, wartości smakowych czy odżywczych. Zainteresowanie konsumentów obejmuje także zagadnienia związane z miejscem pochodzenia produktów, stosowanymi dodatkami, sposobem wytwarzania, korzystnym wpływem na zdrowie a nawet powiązaniem z tradycją regionu i ochroną środowiska.

Rosnące zainteresowanie bezpieczeństwem żywności skutkuje też działaniami władz politycznych i administracji. Wprowadzane są coraz bardziej precyzyjne przepisy w zakresie warunków i metod produkcji, rozwiązania pozwalające na dostęp do informacji o produktach czy dostęp do niezależnych ekspertyz i badań żywności. Z drugiej strony, rozwijane są instrumenty kontroli zarówno przez wyspecjalizowane inspekcje, jak i systemy kontroli wewnętrznej.

Powyższe uwarunkowania determinują działania producentów żywności, którzy starają się wychodzić naprzeciw oczekiwaniom klientów w zakresie bezpieczeństwa żywności. Od prawidłowego odczytania tendencji rynkowych zależy efektywność prowadzonej działalności. Wymaga to jednak znajomości zarówno wiedzy ekonomicznej i technologicznej, korzystania z dotychczasowych doświadczeń, jak i wprowadzania innowacji będących wynikiem badań naukowych.

Celem monografii było pokazanie wpływu różnorodnych uwarunkowań na możliwość zapewnienia bezpieczeństwa żywności w Polsce.

W rozdziale pierwszym pokazano wpływ zmieniających się preferencji i oczekiwań klientów na jakość oferowanej na rynku żywności. Przedstawiono możliwości różnicowania żywności przez dodatki lub metody wytwarzania podyktowane wyborem klientów.

W drugim rozdziale zaprezentowano rynkowe aspekty bezpieczeństwa żywności. Zestawiono naturalne dla producentów poszukiwanie efektywności ekonomicznej z koniecznością zapewnienia bezpieczeństwa żywności.

Wpływ stosowanych składników, dodatków lub metod wytwarzania na jakość oferowanej żywności, zaprezentowano w rozdziale trzecim.

Ostatni, czwarty rozdział zawiera przykłady zastosowania naturalnych substancji podnoszących wartości prozdrowotne, projakościowe żywności.

Monografia została zredagowana z prac przygotowanych i przedstawionych przez uczestników 48 MSKN „Międzynarodowego Seminarium Kół Naukowych. Koła naukowe szkołą twórczego działania”, które odbyło się na Uniwersytecie Warmińsko Mazurskim w Olsztynie w dniach 11-12 kwietnia 2019r. Opracowanie zawiera referaty z zakresu nauk

o żywności. Autorami rozdziałów są studenci i doktoranci realizujący badania w ramach działalności kół naukowych. Każdy rozdział został zrecenzowany przez dwóch pracowników naukowych.

Za powstanie niniejszego opracowania podziękowania należą się przede wszystkim uczestnikom 48 MSKN – autorom prac, recenzentom, osobom zaangażowanym w sprawną organizację poszczególnych sekcji, jak i Konferencji jako całości oraz władzom Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego oraz Wydziału Kształtowania Środowiska i Rolnictwa.

Wojciech Truszkowski

Rozdział I

Wpływ konsumentów na bezpieczeństwo i jakość żywności

Ocena konsumencka jogurtu koziego wzbogaconego w nasiona szałwii hiszpańskiej

The consumers' attitude towards the goat yoghurt enriched with
spanish sage seeds

Katarzyna Magdalena Krupińska
Oliwia Bejnar

Uniwersytet Warmińsko – Mazurski w Olsztynie
Wydział Bioinżynierii Zwierząt
Studenckie Koło Naukowe Hodowców Owiec i Kóz „Chimera”
Opiekun: dr inż. Katarzyna Ząbek

Abstract

Consumer evaluation of goat yogurt enriched with Spanish sage seeds. Goat's milk yoghurts have an original taste and many health-promoting properties, while chia seeds are an interesting new food additive. It is therefore reasonable to combine these two ingredients into a single product. The aim of this study was to evaluate goat yoghurt enriched with Spanish sage seeds (chia) by different age groups of consumers. The sensory evaluation was conducted among 40 respondents, 20 people in each age group. The younger group consisted of people up to the age of 25, while the older group included the remaining respondents.

The results allow us to state that yoghurt with seeds was positively received by the respondents, as it received 75% of positive indications concerning the overall impression. The smell of a milk drink was described as delicate and mild, and the taste as acidic.

Keywords: yoghurt, chia seeds, enrichment, sensory evaluation

Wstęp

Mleko kozie i jego przetwory są różnie postrzegane przez konsumentów. Jedni są świadomi ich pozytywnego wpływu na organizm, znają ich zdrowotne walory oraz kosmetyczne zastosowanie i chętnie je spożywają. Przykładem pozytywnego oddziaływania produktów kozich na organizm są jogurty. Jest to bogate źródło kwasu pantotenowego, niacyny, biotyny, witamin A, D, co powoduje większą kumulację hemoglobiny we krwi a także pozytywnie wpływa na mineralizację zębów oraz kości, a to tylko kilka ich zalet (Mituniewicz-Małek i in. 2011). Drudzy nabywcy natomiast sceptycznie podchodzą do tych wyrobów, ze względu na negatywne, stereotypowe opinie odnośnie smaku i zapachu. Jest też trzecia grupa konsumentów, są to osoby nie tolerujące mleka krowiego ze względu na zawartą w nim frakcję kazein α_{s1} -kazeiny, która jest głównym czynnikiem alergennym. Z tego powodu, mleko kozie może być stosowane jako zamiennik krowiego, gdyż charakteryzuje się

większą ilością α_{s2} -kazeiny i niewielką zawartością bądź też brakiem α_{s1} -kazeiny (Kycia i Szymczak 2013).

Produkty kozie mogą być przygotowywane z różnorodnymi dodatkami, jak na przykład nasiona chia, które są wysoko cenione ze względu na ich właściwości odżywcze i wartość leczniczą. Zawierają zdrowe kwasy tłuszczowe omega-3, wielonienasycone kwasy tłuszczowe, błonnik pokarmowy i białko – w tym wszystkie niezbędne aminokwasy, witaminy, wapń i inne ważne minerały. Poza tym, są również bogatym źródłem polifenoli i przeciwutleniaczy (Deka i Das 2017).

Konsument najchętniej kupuje towary, które są mu znane oraz te, które są bardziej dostępne. Artykuły z mleka koziego nie są tak dostępne na rynku, jak przetwory pochodzące z mleka krowiego, aczkolwiek nie są produktami niszowymi, a raczej rzadziej spotykanymi, mniej popularnymi.

Głównym celem pracy była ocena jogurtu koziego wzbogaconego w nasiona szałwii hiszpańskiej (chia) przez różne grupy wiekowe konsumentów.

Material badawczy

Do badań wykorzystano jogurt, który został wyprodukowany w warunkach laboratoryjnych. Mleko użyte w procesie produkcji, pochodziło od kóz z laboratorium zwierzęcego Wydziału Bioinżynierii Zwierząt Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie.

Rysunek 1. Jogurtownica Yogi-Centre marki oneConcept



Źródło: Fotografia wykonana przez Milenę Kraemer.

W pierwszym etapie produkcji jogurtu, mleko zostało poddane pasteryzacji w pasteryzatorze Milky FJ 15, a następnie schłodzone do temperatury 38°C. Kolejnym krokiem było bezpośrednie zaszczerpienie mleka liofilizowaną kulturą starterową YO-122 (firmy YoghurtTek), w której skład wchodziły szczepy: *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* oraz *Streptococcus salivarius subsp. thermophilus*. Dobrze wymieszane składniki, przelano do słoiczków jednostkowych o pojemności 125 ml i umieszczono w jogurtownicy Yogi-Centre marki oneConcept (rysunek 1) na 10 godzin. Tak przygotowany jogurt, bezpośrednio przed podaniem, wzbogacony został w nasiona szałwii hiszpańskiej w ilości 5 g/100 ml produktu.

Metoda badawcza

Badania organoleptycznej oceny konsumenckiej jogurtu przeprowadzono w drugiej połowie kwietnia 2018 roku. W ankiecie wzięło udział 40 respondentów, po 20 osób w każdej grupie wiekowej. Młodszą grupę stanowiły osoby do 25-tego roku życia, zaś starszą powyżej 25-tego roku życia. Druga grupa nie została ograniczona limitem wiekowym. Kwestionariusz zawierał 7 pytań zamkniętych wielokrotnego i jednokrotnego wyboru. Dwa pierwsze dotyczyły wieku i płci ankietowanych a pozostałe sensorycznych wrażeń po spożyciu jogurtu wzbogaconego w nasiona chia.

Do analizy ankiet wykorzystano tablice wielokrotnych odpowiedzi oraz tablice wielodzielcze. Uzyskane wyniki zostały opracowane statystycznie w programie STATISTICA 13.0 z zastosowaniem testu Chi-2 Persona. Sprawdzano istotność wpływu wieku, zaś wynik można uznać za statystycznie istotny przy poziomie istotności $p \leq 0,05$. Rezultaty badań zostały przedstawione w formie Rysuneków słupkowych.

W badanym jogurcie oceniono również zawartość: wody metodą suszenia do stałej masy wg PN-ISO 6731:2014-11P; białka ogólnego metodą Lowry'ego (Lowry 1951), stosując jako białko wzorcowe albuminę bydlęcą (Bovine Serum – BSA firmy Sigma Aldrich); tłuszczu ogółem metodą ekstrakcji eterem naftowym po zhydrolizowaniu próbki stężonym kwasem solnym (Wojtal 1974).

Wyniki i ich omówienie

Analiza składu chemicznego jogurtów i nasion chia

Jogurt wzbogacony, charakteryzuje się wyższą zawartością podstawowych składników, a w szczególności tłuszczu w porównaniu z jogurtem naturalnym (Tab. 1). Wzrost ten spowodowany jest dodatkiem nasion chia, które w swoim składzie chemicznym zawierają

32,44% tłuszczu surowego. Podobne wyniki w swoich badaniach uzyskała Palka i in. (2017), w których zawartość białka w koktajlach mleczno-owocowych bez nasion wynosiła 2,01%, a tłuszczu 0,17% obj., natomiast po ich wzbogaceniu w szalwię hiszpańską zawierały 3,03% białka oraz 0,77% obj. tłuszczu.

Tabela 1. Skład chemiczny analizowanych jogurtów oraz nasion chia

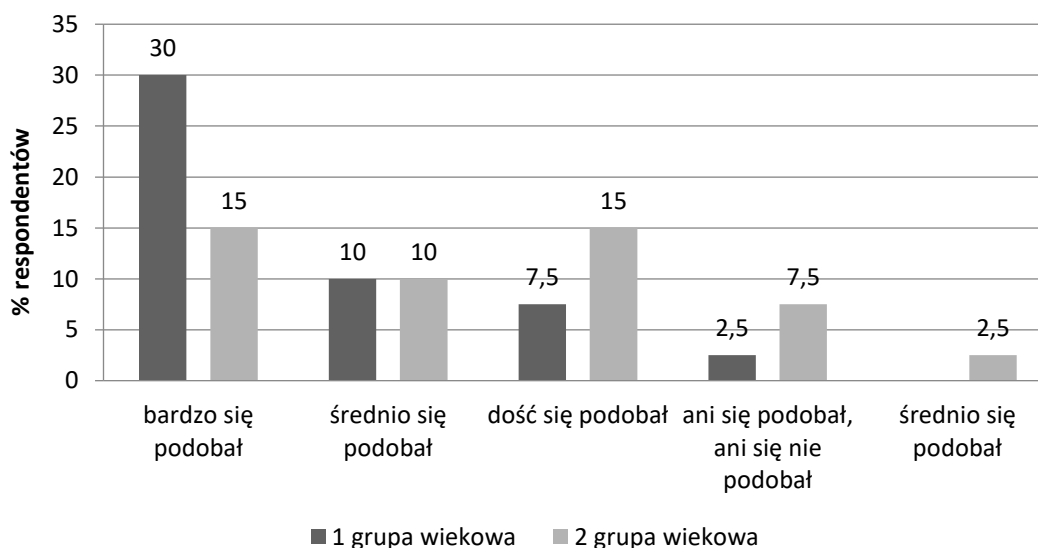
Parametry	Jogurt naturalny	Jogurt z nasionami chia	Nasiona chia
Sucha masa (%)	13,80	16,03	-
Białko ogólne (%)	3,78	4,28	-
Tłuszcz surowy (%)	2,21	3,56	32,44

Źródło: Opracowanie własne.

Analiza wyników przeprowadzonej oceny konsumenckiej

Z danych przedstawionych na rysunku 2 wynika, że 40% respondentów, którzy należeli do pierwszej grupy wiekowej, pozytywnie oceniło wygląd zewnętrzny jogurtu wzbogaconego w nasiona szalwii hiszpańskiej, wskazali oni odpowiedzi „bardzo się podobał” oraz „średnio się podobał”. Natomiast w drugiej grupie wiekowej, jedynie 25% osób wskazało te odpowiedzi.

Rysunek 2. Wyniki oceny konsumenckiej jogurtu – wygląd zewnętrzny

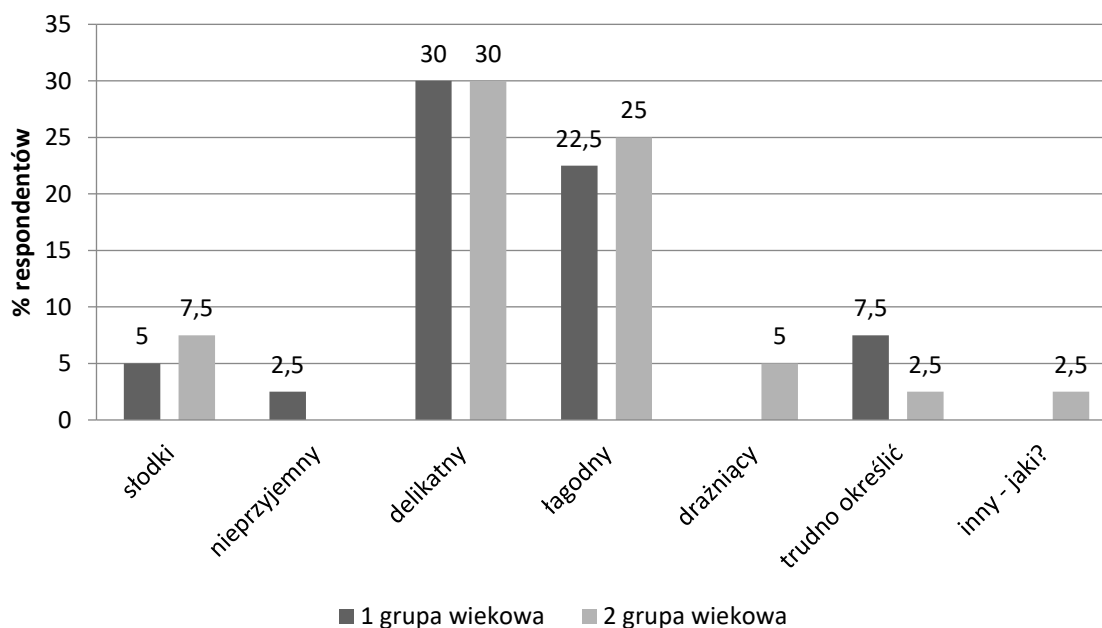


Źródło: Opracowanie własne.

Osoby po 25-tym roku życia bardziej rygorystycznie oceniły produkt. W tej grupie uzyskał on 10% negatywnych ocen (rysunek 1). Potwierdzenie opinii pierwszej grupy wiekowej na temat wyglądu jogurtu z dodatkiem nasion chia, znaleźć można w badaniach Darwish i in. (2018), w których ankietowani określili go jako dobry, co jest równoznaczne z pozytywnym odbiorem produktu.

Z rysunku 3 wynika, że zapach jogurtu z dodatkiem nasion chia, został oceniony jako delikatny. Taką odpowiedź zaznaczyło po 12 osób z każdej grupy wiekowej. Następnym w kolejności wybieranym zapachem był zapach łagodny. Uzyskał on 19 wskazań, 10 w starszej grupie oraz 9 w młodszej. Dwie osoby z drugiej grupy wiekowej stwierdziły, że jogurt miał drażniący zapach, dodatkowo jedna osoba określiła go, jako specyficzny – kozi. W badaniach Darwish i in. (2018) respondenci wskazywali zapach jogurtu z nasionami szałwii hiszpańskiej jako typowy.

Rysunek 3. Wyniki oceny konsumenckiej jogurtu – zapach

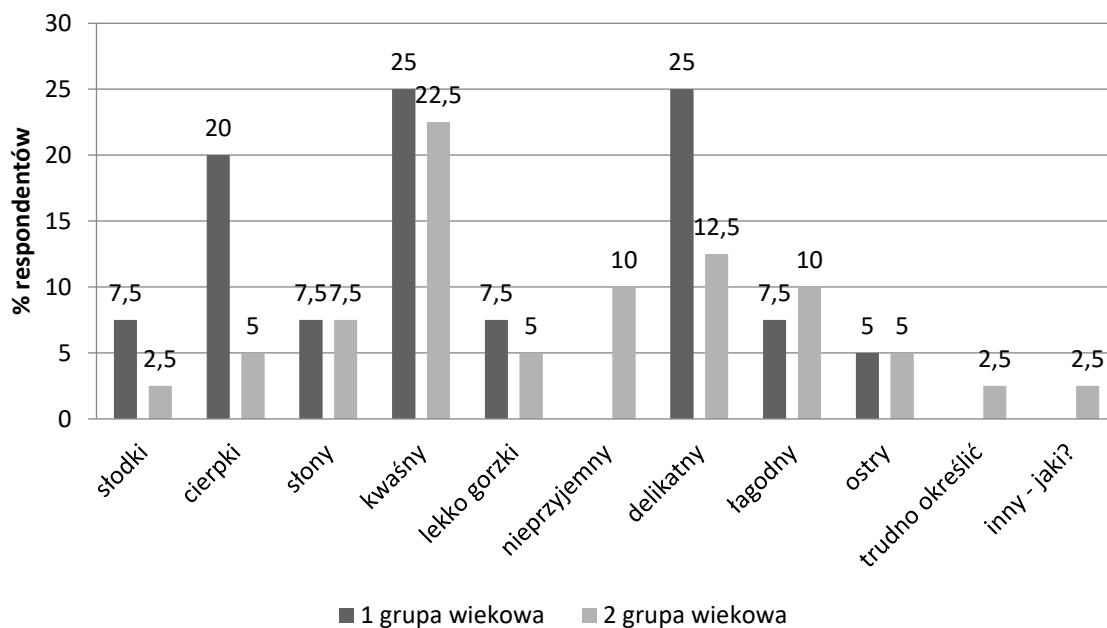


Źródło: Opracowanie własne.

Nie stwierdzono statystycznie istotnych różnic pomiędzy grupami wiekowymi w zakresie analizowanych wyróżników smaku. Rysunek 4 pokazuje, że największą liczbę wskazań uzyskał smak kwaśny, aż 19 osób zaznaczyło tą odpowiedź, 10 z młodszej grupy oraz 9 ze starszej. Smak delikatny był częściej wskazywany przez respondentów młodszej grupy

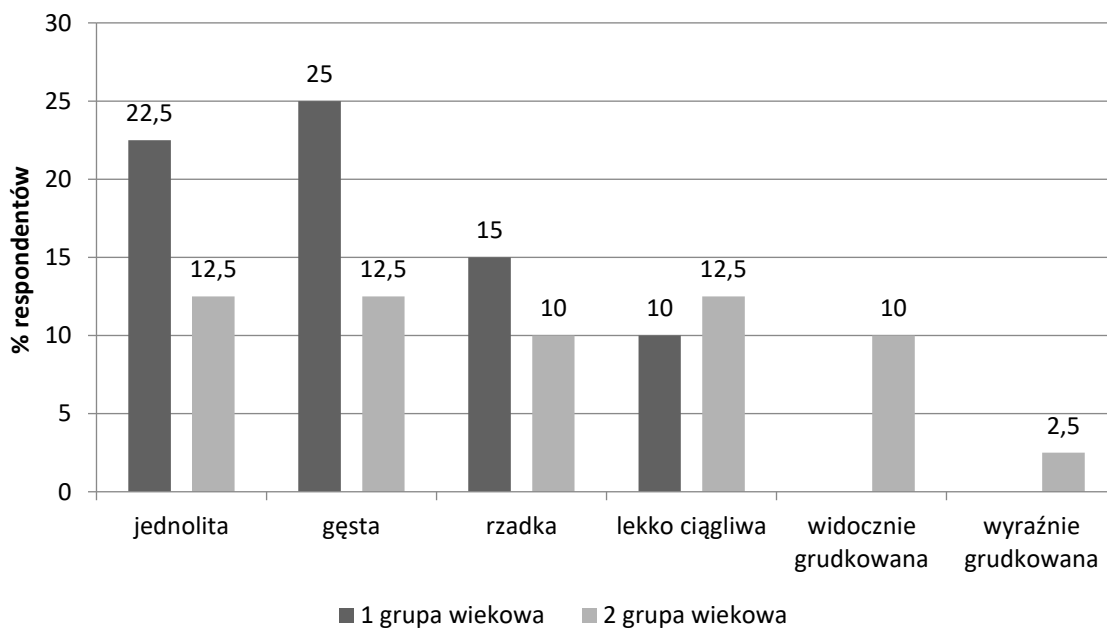
wiekowej. Jogurt wzbogacony, jako nieprzyjemny w smaku, wskazały 4 osoby z drugiej grupy wiekowej. Respondenci w badaniach Darwish i in. (2018) smak jogurtu z nasionami chia ocenili jako dobry.

Rysunek 4. Wyniki oceny konsumenckiej jogurtu – smak



Źródło: Opracowanie własne.

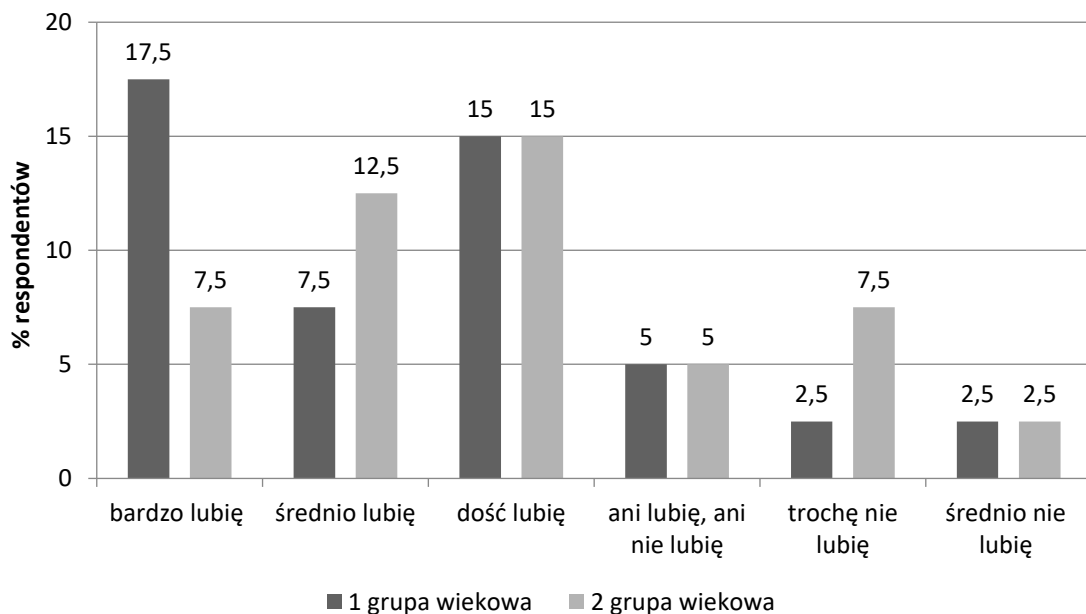
Rysunek 5. Wyniki oceny konsumenckiej jogurtu – konsystencja



Źródło: Opracowanie własne.

Rysunek 5 przedstawia wyniki oceny konsystencji jogurtu. Według respondentów była ona jednolita oraz gęsta – 19 osób z pierwszej grupy wiekowej i 10 osób z drugiej grupy wskazało te odpowiedzi. Tylko respondenci ze starszej grupy ocenili konsystencję jako widocznie lub wyraźnie grudkowaną. Ankietowani, oceniając jogurt fortyfikowany w badaniach Darwish i in. (2018), jego konsystencję określili jako delikatną, lekką na pograniczu z normalną dla tego typu produktów.

Rysunek 6. Wyniki oceny konsumenckiej jogurtu – ogólne wrażenie



Źródło: Opracowanie własne.

Badany produkt ogólnie został pozytywnie oceniony przez konsumentów. Na podstawie rysunku 6 można stwierdzić, iż druga grupa wiekowa jednak gorzej oceniła ten typ jogurtu. 16 osób z młodszej grupy wiekowej wyraziło się pozytywnie o produkcie, natomiast z drugiej grupy wiekowej uczyniło to 14 osób. Odpowiedź „bardzo lubię” została wskazana przez 25% respondentów, 17,5% z młodszej grupy i 7,5% ze starszej grupy. Odpowiedzi „trochę” i „średnio nie lubię” wskazało 15% osób (odpowiednio 5% z pierwszej grupy wiekowej oraz 10% z drugiej). W badaniach Staffolo i in. (2004) nieprzeszkolony zespół sensoryczny przeanalizował akceptację jogurtów z dodatkiem handlowego włókna z jabłek, pszenicy, bambusa lub inuliny przez konsumentów. Uzyskane wyniki wskazały na akceptowalność produktu wzbogaconego między innymi w ziarna.

Podsumowanie i wnioski

Przeprowadzone badania oceny sensorycznej pozwalają na wyciągnięcie następujących wniosków:

1. Wiek konsumentów nie różnicował znacząco oceny jogurtu koziego wzbogaconego w nasiona chia w zakresie zapachu. Zapach określony jako delikatny był dominującą odpowiedzią.
2. Badany produkt został pozytywnie oceniony przez konsumentów pierwszej grupy wiekowej, respondenci powyżej 25-tego roku życia częściej zaznaczyli odpowiedź negatywną – „trochę nie lubię”.
3. Konsumenty poniżej 25-tego roku życia częściej wyczuwali smak cierpki niż konsumenci powyżej 25-tego roku życia (20% v 5%).

Podsumowując, jogurty wzbogacone w nasiona szałwii hiszpańskiej zostały dość pozytywnie ocenione przez respondentów. Jednak przedstawione badania są jedynie badaniami pilotażowymi i wymagają głębszej analizy, gdyż ograniczona liczba respondentów może nie przekładać się na pełną miarodajność wyników.

Literatura

- Darwish A., El-Sohaimy S. A., Khalifa R. E. 2018. *Functional Properties of Chia Seed Mucilage Supplemented In Low Fat Yoghurt*. The Alexandria medical journal 39(3): 450-459.
- Deka R., Das A. 2017. *Advances in Chia Seed Research*. Advances in Biotechnology & Microbiology 5 (2): 1-3.
- Kycia K., Szymczak P. 2013. *Mleko kozie wybryk czy dar natury*. Przemysł Spożywczy. 67 (10): 11-14.
- Lowry O.H., Rosebrough N.J., Farr L.A., Randall R.J. 1951. *Protein measurement with the folin phenol reagent*. The Journal of Biological Chemistry. 193(1): 265-275.
- Mituniewicz-Małek A. , Dmytrów I. , Szuster J. 2011. *Mleko kozie-wartość odżywcza*. Przegląd Mleczarski. 06: 16-18.
- Staffolo M. D., Bertola N. C., Martino M. A., Bevilacqua Y. A. 2004. *Influence of dietary fiber addition on sensory and rheological properties of jogurt*. International Dairy Journal. 14(3): 263-268.
- Wojtal R., Trojan M. 1974. *Ćwiczenia z analizy technologicznej surowców i produktów przemysłu spożywczego*. PWN, Warszawa: 514-514.

Ocena konsumencka mleczek roślinnych przez młodych dorosłych z Polski i Niemiec

Consumer attitudes towards plant-based milk substitutes among Polish and German young adults

Oliwia Antosik
Jan Pawlaczek

Uniwersytet Morski w Gdyni,
Wydział Przedsiębiorczości i Towaroznawstwa
Naukowe Koło Towaroznawstwa „Cargo”
Opiekun: dr inż. Przemysław Dmowski

Abstract

Plant-based milk substitutes are products that gain popularity on the market, consumed because of different reasons. Lactose intolerance, avoidance of products of animal origin or ecological concerns are just some of the factors behind this trend.

The purpose of the research was to compare different attitudes towards plant-based milk substitutes among Polish and German young adult consumers. In order to examine the differences, following data was collected: correlation between consumption frequency and particular diets, choice of raw material, motivation behind consumption, price acceptance and decisive factors of the purchase.

All data was compared between groups from Poland and Germany. The interpretation of collected and compared information allowed authors to conclude differences and similarities in attitudes of young people from two groups of responders. All the information was collected through surveys among responders at age between 18-35, both male and female.

Keywords: plant-based milk substitutes, non-dairy alternative, consumer attitudes, lactose intolerance

Introduction

Plant-based milk substitutes are colloidal suspensions or emulsions of dissolved and disintegrated plant material in the water. The substitutes are prepared by extraction of the material, followed by liquid separation and preservation by homogenization and heat treatment. Plant-based milk substitutes can be consumed as a finished product or further processed (Makinen et al. 2015). The nutritional values of the product depend on the type of plant material used, on the process and the possible enrichment of the composition.

The process of production in general is based on soaking the plant material and wet milling in order to extract the milk constituents. Alternatively the raw material is dry milled and the flour is extracted in water. Before the extraction, raw material can be pre-treated,

for example dehulled, soaked or blanched (Debruyne 2006). The extraction step has a great impact on the composition of the final product. After the extraction, large particles are removed by filtration, decanting or centrifugation (Diarra et al. 2005). Next, the product can be supplemented with vitamins and minerals. Sweeteners, flavourings, salt, oils and stabilisers can be added. Finally the product is homogenised in order to improve the stability of plant-based milk substitutes. At the end of commercial production the products are pasteurised or UHT treated to extend the shelf life (Makinen et al. 2015).

Different raw materials can be used to produce plant-based milk substitutes. Raw materials typically used can be divided into five categories: cereals, legumes, nuts, seeds, pseudo-cereals. This division was proposed by Sethi in 2016. Different materials provide a variety of resulting qualities as well as diverse technological challenges. Rice and oat, as raw materials of plant-based milk substitutes, have poor emulsion stability due to high starch content (Sethi et al. 2016). Another example of the problem concerning properties of the raw material is beany flavour. Mainly it concerns soy milk but also peanut milk. Limitation factors are resolved by technological intervention.

Health benefits of the product also mostly depend on the type of raw material used. Examples listed below show this dependence. Oats contain β -glucan, a soluble fibre, which increases solution viscosity, can delay gastric emptying time (Welch 1995) and causes a hypocholesterolemic effect by reducing total and LDL cholesterol (Turswell 2002). Soy milk contains isoflavones, which have a protective effect against cancer, cardiovascular disease and osteoporosis (Omoni and Aluko 2005). Almond is a nutrient-dense product and is an excellent source of vitamin E in the form of alpha-tocopherol and manganese. Alpha-tocopherol can be found in almond milk and it is an antioxidant which plays a critical role in protecting against free-radical reactions (Niki et al. 1989). Examples of rice milk's health benefits are lowering cholesterol, hypertension, anti-diabetic, anti-inflammatory and anti-oxidative effects (Biswas et al. 2011), (Faccin et al. 2009). Health benefits of raw material come from its functional or bioactive components.

Motivation for consuming plant-based milk alternatives varies from case to case. According to an estimate, 15% of European consumers avoid dairy products. Medical reasons such as lactose intolerance, cow's milk allergy, phenylketonuria are significant when it comes to purchase choices (Makinen et al. 2015). Lactose intolerance is a condition that disables lactose digestion due to lactase deficiency (Swagerty et al. 2002). People with lactose intolerance avoid dairy, therefore they can be potential consumers of plant-based milk

alternatives. Furthermore, plant-based milk substitutes can be perceived as functional beverages, since for many the products answer medical issues such as mentioned lactose intolerance or cow's milk allergy.

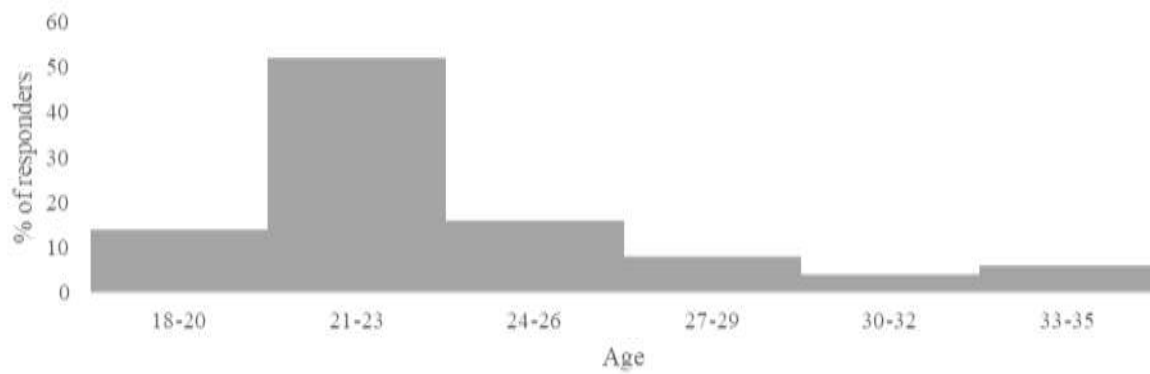
Lifestyle choices like a vegetarian diet or concerns about greenhouse gasses emission are becoming more important for large number of people. Term „vegetarian” cover a range of dietary choices, including veganism which is avoidance of all animal product, but also lacto-ovo vegetarianism allowing eggs and dairy consumption, semi-vegetarianism (also called flexitarianism) and pesco-vegetarianism. Semi-vegetarianism is a diet with occasional inclusion of meat and pesco-vegetarianism is a type of diet that includes fish consumption. Motivations of choosing the vegetarian diet also differ. The reasons can be personal health, animal cruelty, disgust or repugnance with eating flesh, food beliefs, family influences (Fox and Ward 2008). Consumers who avoid dairy are also concerned about growth hormone or antibiotic residues in cow's milk (Jago 2011), calories intake and prevalancing hypercholesterolemia (Sethi et al. 2016).

Some consumers are looking for more environmental-friendly options in their diet. They pay attention for carbon footprint that they leave and consider amount of greenhouse gas emitted to produce certain product. Greenhouse gas emission is linked with production of food, therefore dietary choices have a strong effect on the environmental impact associated with the food system (Heller et al. 2014). Milk and dairy production emit greenhouse gasses because of land use, crop production, feed transport and livestock maintenance (Poore and Nemecek 2018). Greenhouse gas emissions from cow's milk were almost three times higher than from soy milk production (Poore and Nemecek 2018). Differences between plant-base milk alternatives and cow's milk production can influence some consumers dietary and purchase choices.

Research and respondents

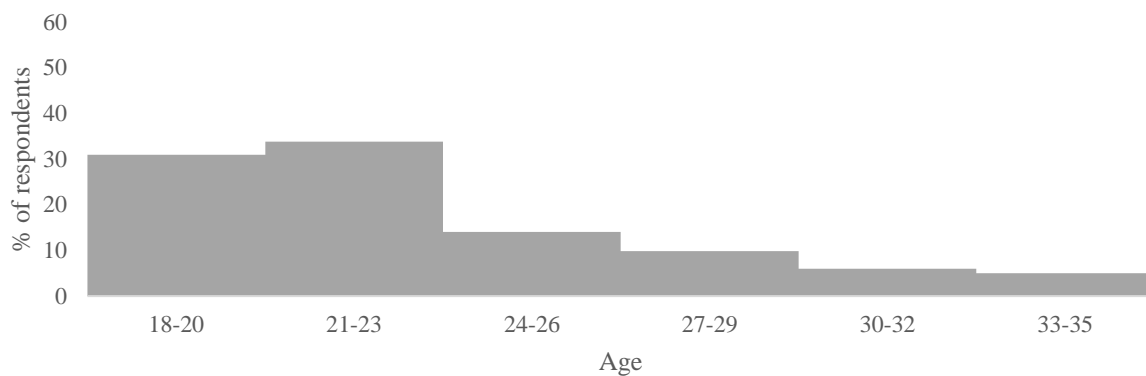
The research was conducted among young adults, declared consumers of plant-based milk substitutes. Two groups from Poland and Germany, consisting of 100 students each were subjects to this research. All participants were filling the online survey on a voluntary basis. Two language versions of the survey were distributed – in English with German translation of the vocabulary and Polish. Polish group gender distribution was 82 female and 18 male. German group gender distribution was 84 female and 15 male, one person preferred not to give a gender. Age distribution is presented in figures 1. and 2.

Figure 1. Distribution of the responders age in polish group



Source: own work.

Figure 2. Distribution of the responders age in german group



Source: own work.

Furthermore, respondents were asked about dietary choices. Few diets reducing the consumption of animal-based products were indicated in the surveys: vitarianism, veganism, vegetarianism, pescitarianism and flexitarianism. Distribution of the respondents declaring the diets in Polish group was, respectively: 1%, 25%, 29%, 2%, 6% and 37% of respondents declared no particular diet. In German group whereas, respectively: 0%, 14%, 24%, 5%, 1% and 55% declared no particular diet.

In order to examine the differences and similarities in attitudes in regard to plant-based milk substitutes, following data was collected: correlation between consumption frequency and particular diets, choice of raw material, motivation behind consumption, price acceptance and decisive factors of the purchase.

The purpose of the research was to compare different attitudes towards plant-based milk substitutes in two groups of different nationalities. Few hypotheses were set before the result presentation and discussion:

1. German respondents are consuming plant-based milk substitutes more often than Polish;
2. There is a correlation between frequency of plant-based milk substitute consumption and diet of reducing animal products consumption;
3. There are similarities in both groups in the most popular plant-based milk substitutes types;
4. There are significant differences between reason respondents consume plant-based milk substitutes in two groups;
5. Among all the decisive factors behind the purchase, price of the plant-based milk substitute is declared most important.
6. Polish consumers are willing to spent less money on average on plant-based milk substitute than German consumers

Collected data

Frequency of consumption was examined by collecting answers in a form of a scale consisting of 5 points: “every day”, “more than once a week”, “once a week”, “once every two weeks”, “from time to time”. Percentage of answers in both groups is presented in table 1.

Table 1. Frequency of consumption

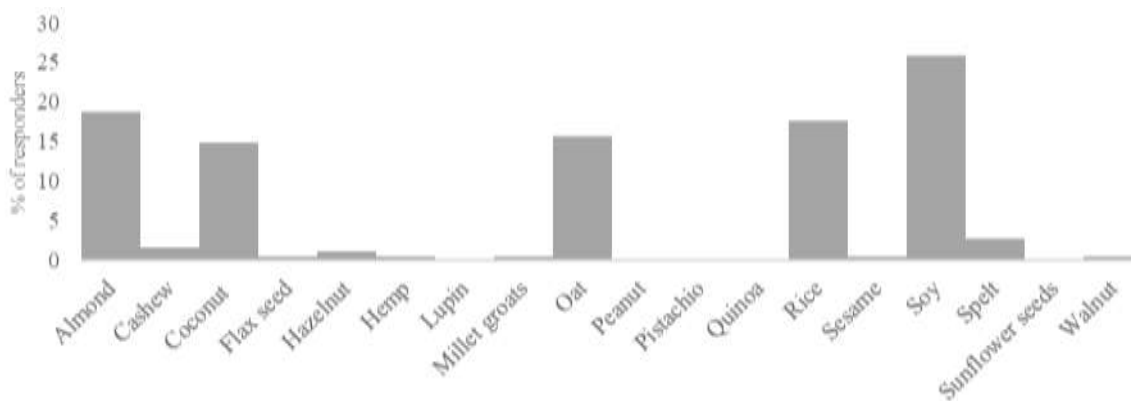
Frequency	% of responders	
	Polish	German
Everyday	26	27
More than once a week	4	9
Once a week	29	22
Once every two weeks	4	1
From time to time	37	41

Source: own research.

Correlation between frequency and declaring no particular diet was computed with MS Excel 2016. Numeric values had been assigned to each 5 points on the scale of frequency. “Every day” – 5, “more than once a week” – 4, “once a week” – 3, “once every two weeks” – 2, “from time to time” – 1. Numeric values had also been assigned to the diet declaration. If no certain diet was declared – 0, if any diet of limiting or abstaining from the consumption of animal products and meat was declared – 1. Correlation results in Polish group shown: $r = 0,418$, $p = 0,05$. Correlation results in German group shown: $r = 0,373$, $p = 0,05$. In both cases correlation is statistically significant.

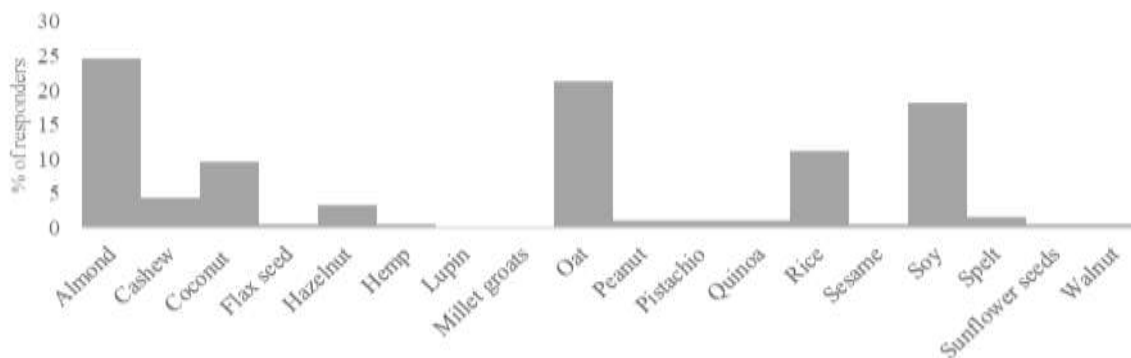
In order to examine preferred raw material of most frequent chosen plant-based milk substitute list of 18 cereals, legumes, nuts, seeds and pseudo-cereals was presented to the respondents from both groups. Results are presented in figures 3. and 4.

Figure 3. Most frequent types of plant-based milk substitutes among polish responders



Source: own research.

Figure 4. Most frequent types of plant-based milk substitutes among german responders



Source: own research.

Afterwards, motivation behind plant-based milk consumption was examined. Five different motivation was enclosed in the survey. Selection was based on the reasons given in the literature on the subject. Table 2. presents comparison of the results from both groups.

In both groups, a small subgroup of respondents did declared not to buy plant-based milk substitutes in favour to consuming them only as a take-out option or in a cafes etc. 8% of Polish responders declared so, and 24% of German responders. This allowed to conduct a further research on a group of respondents buying plant-based milk substitutes. Two more questions concerned the decisive factor behind the purchase and price acceptance.

Table 2. Reasons behind consumption

Reason	% of responders	
	Polish	German
Taste, smell	47	56
Ecological reasons	34	42
Ethical reasons	60	46
Health problems	30	17
Health benefits	39	45

Source: own research.

Table 3. presents decisive factors. Five different factors were presented to the respondents, referring to the motivation behind consumption.

Table 3. Decisive factor behind the purchase

Factor	% of responders	
	Polish	German
Brand	14	11
Price	79	55
Raw material	68	65
Vitamins and calcium addition	35	22
Lack of aromas and sugar addition	57	35
Lack of other food additives	42	25

Source: own research.

In order to examine price acceptance respondents from both groups were asked about the price they would be willing to pay for a carton of plant-based milk substitute of their choice. Results are presented in form of histograms with intervals around 2 PLN, or 0.46€ (which converts to 1.99 PLN by exchange rate – 1€ = 4.33477814 PLN on day 20.02.2019). Results are presented on figures 5. and 6. Average for Polish group was 8.55 PLN and for German group 1.83€.

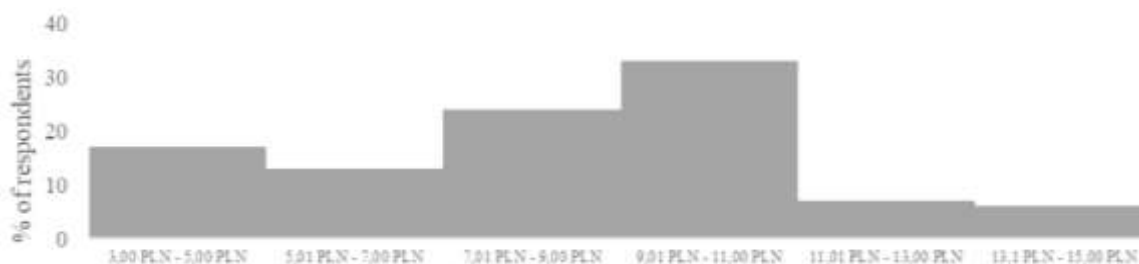
Discussion of the results

First hypothesis, from the list above, was set in order to examine the frequency of plant-based milk substitute consumption. It was assumed that German respondents are consuming plant-based milk substitute more often. From the results, it can be read that in both groups most people consumption was declared to be “once a week” and more often. In Polish group 59% respondents declared to consume “once a week”, “more than once a week” and “everyday”. In German percentage was 58%. Occasional consumers – consuming “once

every two weeks” and “from time to time” – in both groups are still forming significantly large part of respondents. There was no big disproportions between Polish and German group.

Correlation factor in Polish group ($r = 0.418$) shows a weak but noticeable correlation between the fact of declaring any meat and animal products reducing diet (including vitarianism, veganism, vegetarianism, pescitarianism and flexitarianism) and frequency of consumption. Same observation can be made in German group, where correlation was even weaker (by 0.046). It can be presumed that there is a significant group of people that are declaring to not be on any diet, that still consume plant-based milk substitute on a regular basis. Explanation of this phenomenon can be growing market for lactose free products. Plant-based milk substitute naturally doesn't contain lactose and can be consumed by people with lactose intolerance.

Figure 5. Distribution of desired price among polish group



Source: own work

Figure 6. Distribution of desired price among german group



Source: own work

As plant-based milk substitute group consists of products made with a variety of raw materials, most frequently chosen were identified. In both groups same raw materials were dominating. Almond, coconut, oat, rice and soy. Almond was about 5% points more popular among German respondents in opposite to Polish. On the other hand coconut was about 5% more popular among Polish responders. Oat was chosen more often by Germans, but soy and rice was more popular among Poles. With different percentage results, more less the same

plant-bases were indicated. It can be presumed that it is connected with both acceptability in taste and smell and price rates.

Reasons behind consumption of plant-based milk substitutes shows differences between Polish and German respondents. Polish respondents were concerned about ethical aspects of consuming milk alternatives. However this could be explained by 78% bigger group of vegans in Polish group in the research. German participants more often chose taste and smell, ecological reasons and health benefits. Health problems including lactose intolerance were indicated by 30% of Polish respondents and 17% of German respondents.

It was presumed that price will be the most important decisive factor behind the purchase of plant-based milk substitute, since it is often a way of substituting cow's milk that characterizes relatively low price. In Polish group 79% of respondents declared that price is the most decisive factor. In German group on the other hand the raw material – responsible for organoleptic characteristics, was chosen as most decisive – chosen by 65% of respondents. This conclusions shows the difference in the perception of the price of the products, which was in-depted by the next question concerning price acceptance.

Price acceptance in German group was focused on the lower prices. Interval from 1,37 to 1,82 € was the most often pointed – more than 25% respondents chose it. More than 30% of Polish respondents pointed to the interval from 9,01 to 11,00 PLN. Taking into consideration the exchange rate, Polish respondents were willing to pay more than German on average.

Conclusions

German respondents as well as Polish group consumed plant-based milk substitutes equally frequent. 58% and 59% are respectively amounts of respondents who consumed the product once a week or more often from Poland and from Germany, therefore the first hypothesis has been disproved.

The correlation between frequency of plant-based milk substitute consumption and being on reduced animal products consumption diet was weak but noticeable, in both groups. Even though the correlation was weak, hypotheses has been confirmed.

The differences between preferable raw material declarations in two groups were small and insignificant. Few raw materials were evidently chosen more often than the rest of options among both respondents' groups. This result allowed to confirm the third hypothesis.

Polish and German respondents showed that the two groups consume plant-based milk substitutes from different reasons. The fourth hypothesis was confirmed.

The price of plant-based milk substitutes was important decisive factor for both groups of respondents, although it was not the most significant one among respondents from Germany. The fifth hypothesis was only confirmed in case of the Polish responding group.

The last hypothesis was disproved, because there are differences between price acceptance among responding groups. The German respondents were willing to pay less than Polish on average.

References

- Biswas S., Sircar D., Mitra A., De B. 2011. *Phenolic constituents and antioxidant properties of some varieties of Indian rice*. Nutrition and Food Science, 41 (2): 123–135.
- Debruyne, I. 2006. *Soy base extract: soymilk and dairy alternatives*. [in:] *Soy applications in foods*, Riaz, M. N., (Ed.), Taylor & Francis, Boca Raton, Florida: 111-134.
- Diarra, K., Nong, Z. G., and Jie, C. 2005. *Peanut milk and peanut milk based products production: A review*. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 45: 405-423.
- Faccin G., L, Miotto L., A., Vieira L., N., Barreto P., L., M., Amante E., R. 2009. *Chemical, sensorial and rheological properties of a new organic rice bran beverage*. Rice Science, 16 (3): 226–234.
- Fox, N., Ward, K. 2008. *Health, ethics and environment: A qualitative study of vegetarian motivations*. Appetite, 50: 422-429.
- Heller, M., C., Keoleian, G., A. 2015. *Greenhouse Gas Emission Estimates of U.S. Dietary Choices and Food Loss*. Industrial Ecology, 19 (3): 391-401.
- Jago, D. 2011. *Free from foods -Mintel report. Free From Allergy and Intolerance*. FDIN seminar. Daventry, UK.
- Mäkinen, O., E., Wanhalinna, V., Zannini, E., Arendt, E., K. 2015. *Food for Special Dietary Needs: Non-Dairy Plant Based Milk Substitutes and Fermented Dairy Type Products*. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 56 (3): 339-349.
- Niki E., Yamamoto Y., Takahashi M., Komuro E, Miyama Y. 1989. *Inhibition of oxidation of biomembranes by tocopherol*. Annals of the New York Academy of Sciences, 570: 23–31.
- Omoni A., O., Aluko R., E. (2005) *Soybean foods and their benefits: potential mechanisms of action*. Nutrition Review, 63 (8): 272–283.
- Poore, J., Nemecek, T. 2018. *Reducing food's environmental impacts through producers and consumers*. Science, 360: 987-992.
- Sethi, S., Tyagi, S., K., Anurag, R., K. 2016. *Plant-based milk alternatives an emerging segment of functional beverages: a review*. Journal of Food Science and Technology, 53 (9): 3408-3423.
- Swagerty, D., L., Walling, A., D., Klein, R., M. 2002. *Lactose intolerance*. American Family Physician, 65: 1845-1850.
- Truswell A., S. 2002. *Cereal grains and coronary heart disease*. European Journal of Clinical Nutrition, 56 (1): 1–14.
- Welch R., W. 1995. *Oats in human nutrition and health. The oat crop. Production and utilization*. Chapman and Hall, London: 433–479.

Postawy i zachowania konsumentów wybranych krajów europejskich wobec produktów fermentowanych

Attitudes and behavior of selected European countries consumers towards fermented food products

Marcelina Wilczak

Uniwersytet Morski w Gdyni
Wydział Przedsiębiorczości i Towaroznawstwa
Naukowe Koło Towaroznawstwa „Cargo”
Opiekun: dr inż. Przemysław Dmowski

Abstract

Along with the increase in demand for natural food and having a pro-health effect on health, there is an increasing interest in fermented products that are introduced to European markets. In Europe, fermentation is mainly used in the dairy industry, but the growing demand for plant products or innovative drinks implies the appearance of less popular, niche producers of the food industry, including producers of food and fermented beverages.

The aim of the study was to assess the perception and frequency of consumption of fermented products among people living in different countries in Europe. The survey involved 146 respondents, at age between 18 - 30 from Croatia, Spain, Germany, the British Isles and Poland. A hypothesis about the significant impact of the country of origin on attitudes and behavior towards fermented products has been formulated.

The survey contained 12 questions concerning knowledge, frequency of consumption and popularity in a given country of selected types of fermented products. Respondents were also asked about the reasons for their consumption and the significance of product features for them.

Keywords: fermented food; consumer behaviour; consumer attitudes

Wstęp

Fermentacja to jeden z najstarszych procesów przetwarzania i konserwowania żywności, znana na całym świecie jest częścią niemal wszystkich kultur ludzkich. Fermentowane produkty spożywcze są zwykle stabilniejsze i bezpieczne mikrobiologicznie, a niektóre z nich można przechowywać nawet w temperaturze otoczenia. Ponadto istnieje kilka przykładów procesów fermentacji, które prowadzą do wzrostu wartości odżywczej i strawności surowców spożywczych (Karyadi i Lukito 2000). Procesy fermentacji żywności również dostarczają produkty o wyjątkowych walorach sensorycznych, pożądanym przez konsumentów (Jägerstad i in. 2005).

Zróżnicowaną gamę unikalnych fermentowanych wyrobów spożywczych, związanych z lokalnymi tradycjami, można znaleźć już nie tylko w ściśle określonych regionach

geograficznych (Smid i Hugenholtz 2010). Europejski rynek produktów fermentowanych jest stale rozwijającym się sektorem przemysłu spożywczego, ponieważ nowocześni konsumenci wykazują rosnące zapotrzebowanie na żywność, postrzeganą jako nisko przetworzoną, naturalną, tradycyjną, czy dostarczającą korzyści zdrowotnych (Marsh i in. 2014). Produkty fermentowane, często wprowadzane są przez producentów do głównego nurtu, na zasadach bardziej globalnych, ze specyficznych rejonów geograficznych i rynków specjalistycznych.

W Europie fermentacja wykorzystywana jest głównie w przemyśle mleczarskim, jednak rosnące zapotrzebowanie na produkty roślinne czy innowacyjne napoje, implikuje pojawianie się mniej popularnych, niszowych producentów branży spożywczej. Kluczowymi produktami fermentowanymi na ówczesnym rynku są nie tylko powszechnie znane wyroby mleczne, mięsne, sosy (sos sojowy, rybny czy angielski Worcestershire), kiszona warzywa (kapusta kiszona, ogórki kiszane, koreańskie kimchi), ale i mniej popularne w Europie azjatyckie produkty fermentowane na bazie soi takie jak: japońskie miso lub indonezyjski tempeh (Kuligowski i Nowak 2010) oraz fermentowane napoje funkcjonalne, z kombuchą na czele (Marsh i in. 2014).

Cel

Celem badania była ocena percepcji oraz częstotliwości spożycia produktów fermentowanych, wśród osób zamieszkujących różne kraje na terenie Europy. W badaniu uczestniczyło łącznie 146 konsumentów w wieku od 18 do 30 lat pochodzących z Chorwacji (28 ankietowanych), Hiszpanii (29 ankietowanych), Niemiec (29 ankietowanych), Wysp Brytyjskich (30 ankietowanych) oraz Polski (30 ankietowanych). W toku badania sformułowano hipotezę o istotnym wpływie kraju pochodzenia na postawy i zachowania wobec produktów fermentowanych.

Metoda badawcza

Badanie przeprowadzono w oparciu o zastosowanie techniki badań, za pomocą ankiety pośredniej wśród losowo wybranych konsumentów w przedziale wiekowym 18-30 lat z ośmiu krajów europejskich. Ankietowani pochodzili z Niemiec (29), Hiszpanii (29), Chorwacji (28), Polski (30), oraz z Wielkiej Brytanii, Walii, Irlandii i Szkocji, którzy zebrani zostali w jedną grupę zdefiniowaną jako „Wyspy Brytyjskie” (30). Powyższe grupy stanowiły czynnik różnicujący ankietowanych. Łącznie w badaniu wzięło udział 146 osób.

Zastosowany formularz ankiety zawierał 12 pytań otwartych i zamkniętych, wielokrotnego oraz jednokrotnego wyboru. Pytania dotyczyły znajomości, częstotliwości

spożycia i powszechności wybranych kategorii produktów fermentowanych. Zapytano również o powody ich spożywania oraz znaczenia poszczególnych cech produktów dla respondentów.

Wyniki badań

Wstęp kwestionariusza miał na celu uzyskanie informacji o popularności, częstotliwości spożywania oraz aprobacie wybranych grup produktów fermentowanych dostępnych na rynku [mleczne produkty fermentowane (p.f.); mięsne p.f.; rybne p.f.; warzywa kiszone; sojowe p.f.; napoje fermentowane (f.)].

W tabeli 1 przedstawiono ocenę powszechności na rynku przez respondentów wyżej wymienionych grup produktów. Badani wybierali spośród trzech wariantów (rzadko spotykane; zyskujące popularność; popularne).

Tabela 1. Popularność wybranych grup produktów fermentowanych

Grupa respondentów	Kryterium cechy	Kategoria produktów (% odpowiedzi)					
		Mleczne p.f.	Mięsne p.f.	Rybne p.f.	Warzywa kiszone	Sojowe p.f.	Napoje f.
Niemcy	Rzadko spotykane	14	10	21	0	17	59
	Zyskujące popularność	0	10	28	10	45	31
	Popularne	86	79	52	90	38	10
Hiszpania	Rzadko spotykane	0	0	59	41	31	69
	Zyskujące popularność	0	0	7	14	52	24
	Popularne	100	100	34	45	17	7
Chorwacja	Rzadko spotykane	7	0	32	21	64	82
	Zyskujące popularność	0	7	21	21	29	14
	Popularne	93	93	46	57	7	4
Wyspy Brytyjskie	Rzadko spotykane	3	17	40	57	20	80
	Zyskujące popularność	3	13	27	23	23	10
	Popularne	93	70	33	20	57	10
Polska	Rzadko spotykane	0	13	53	7	47	67
	Zyskujące popularność	0	20	20	13	43	27
	Popularne	100	67	27	80	10	7

Źródło: opracowanie własne.

Znaczna większość ankietowanych, w obrębie wszystkich grup wskazywała mleczne oraz mięsne produkty fermentowane, jako najpopularniejsze. 52% Niemców oraz 46% Chorwatów określiła rybne produkty fermentowane jako popularne. Warzywa kiszone najpowszechniejsze były pośród Niemców (90%), Polaków (80%) oraz Chorwatów (57%). Napoje fermentowane i sojowe produkty fermentowane, zostały ocenione jako najmniej powszechne w ogólnym zestawieniu. 59% Niemców, 67% Polaków, 69% Hiszpanów, 82% Chorwatów oraz 80% mieszkańców Wysp Brytyjskich wskazało na napoje fermentowane jako

„rzadko spotykane”. Można zauważyć wzrost dostępu do sojowych produktów fermentowanych pośród badanych z Wysp Brytyjskich - ponad połowa badanych w obrębie tej grupy (57%), wskazała sojowe produkty jako popularne. Badani z Polski (43%), Niemiec (45%) oraz Hiszpanii (52%) sojowe produkty fermentowane określili jako „zyskujące popularność”.

W tabeli 2 zaprezentowano wyniki dotyczące częstotliwości spożycia poszczególnych kategorii produktów fermentowanych przez respondentów.

Tabela 2. Częstotliwość spożywania wybranych kategorii produktów fermentowanych przez respondentów

Nigdy						
Grupa respondentów		Niemcy	Hiszpania	Chorwacja	Wyspy Brytyjskie	Polska
kategoria produktów	Mleczne p. f.	7	0	0	7	3
	Mięsne p. f.	10	7	4	33	27
	Rybne p. f.	14	45	21	63	30
	Warzywa kiszzone	3	17	7	40	10
	Sojowe p. f.	3	7	54	23	30
	Napoje f.	38	66	57	87	63

Okazjonalnie						
Grupa respondentów		Niemcy	Hiszpania	Chorwacja	Wyspy Brytyjskie	Polska
kategoria produktów	Mleczne p. f.	14	0	14	20	23
	Mięsne p. f.	21	10	11	17	27
	Rybne p. f.	52	17	39	37	60
	Warzywa kiszzone	28	52	32	57	30
	Sojowe p. f.	62	48	36	50	40
	Napoje f.	41	28	43	13	33

Kilka razy w miesiącu						
Grupa respondentów		Niemcy	Hiszpania	Chorwacja	Wyspy Brytyjskie	Polska
kategoria produktów	Mleczne p. f.	10	7	4	3	10
	Mięsne p. f.	24	17	36	30	37
	Rybne p. f.	31	17	32	0	10
	Warzywa kiszzone	55	17	46	0	50
	Sojowe p. f.	34	38	11	23	23
	Napoje f.	17	0	0	0	3

Kilka razy w tygodniu						
Grupa respondentów		Niemcy	Hiszpania	Chorwacja	Wyspy Brytyjskie	Polska
kategoria produktów	Mleczne p. f.	31	52	54	50	50
	Mięsne p. f.	24	66	39	20	7
	Rybne p. f.	3	21	7	0	0
	Warzywa kiszzone	14	14	7	3	10
	Sojowe p. f.	0	7	0	3	7
	Napoje f.	3	7	0	0	0

		Codziennie				
Grupa respondentów		Niemcy	Hiszpania	Chorwacja	Wyspy Brytyjskie	Polska
kategoria produktów	Mleczne p. f.	38	41	29	20	13
	Mięsne p. f.	21	0	11	0	3
	Rybne p. f.	0	0	0	0	0
	Warzywa kiszone	0	0	7	0	0
	Sojowe p. f.	0	0	0	0	0
	Napoje f.	0	0	0	0	0

Źródło: opracowanie własne.

Produktami, które nigdy nie były spożywane przez większość respondentów ogółem (62%), były napoje fermentowane. Znaczna większość spośród mieszkańców Wysp Brytyjskich (87%), Hiszpanów (66%), Polaków (63%) oraz Chorwatów (57%), nigdy nie spożywała tych wyrobów. Jedynie 17% Niemców i 3% Polaków zadeklarowała spożywanie powyższych napojów okazjonalnie. Tylko pośród Niemców (3%) zadeklarowano spożywanie ich kilka razy w tygodniu. 66% mieszkańców Wysp Brytyjskich nigdy nie spożywała rybnych produktów fermentowanych, żaden ankietowany nie przyznał, że spożywał te wyrobów codziennie. Ponad połowa respondentów z Chorwacji (54%) nie spożywa produktów sojowych. Okazjonalne spożywanie produktów sojowych przyznało 62% Niemców i połowa mieszkańców Wysp Brytyjskich. Nieco ponad połowa Niemców (55%), połowa Polaków oraz 46 % Chorwatów, deklaruje spożywanie warzyw kiszonych kilka razy w miesiącu, a 7% spośród tej grupy konsumuje je codziennie, mieszkańcy Wysp Brytyjskich spożywają warzywa kiszone wyłącznie okazjonalnie (57% respondentów). Jedyną kategorią produktów, która spożywana jest codziennie przez respondentów spośród wszystkich grup badawczych, są mleczne produkty fermentowane (41% Hiszpanów, 38% Niemców, 29% Chorwatów, 20% mieszkańców Wysp Brytyjskich i 13% Polaków).

W tabeli 3 ukazano stosunek respondentów względem omawianych kategorii produktów fermentowanych. Badanych poproszono o umiejscowienie swojej postawy na czterostopniowej skali opisowej [nie lubię; ani nie lubię, ani lubię; lubię].

Znaczna większość respondentów spośród wszystkich grup badawczych zadeklarowała, iż lubi mleczne produkty fermentowane. Są one najchętniej spożywane przez ogół ankietowanych. Mięsne produkty fermentowane, są najchętniej spożywane przez znaczą większość Hiszpanów (83%), Chorwatów (79%) oraz Niemców (73%). Najmniej lubiane, pośród wszystkich respondentów, są rybne produkty fermentowane (35% wszystkich respondentów), ponad połowa ankietowanych Chorwatów (54%) i 41% Hiszpanów wskazało, że lubi te wyroby, przeciwnie do mieszkańców Wysp Brytyjskich i Polaków, pośród których

tylko niewielki odsetek lubi produkty fermentowane na bazie ryb. Warzywa kiszone najchętniej spożywane są przez Niemców (69%), Polaków (63%) i Chorwatów (61%). Niechęć w stosunku do kiszonych warzyw wskazała niemal połowa mieszkańców Wysp Brytyjskich (47%) i 38% Hiszpanów.

Tabela 3. Stosunek respondentów względem poszczególnych kategorii produktów fermentowanych

Grupa respondentów	Wartość cechy	Kategoria produktów (% odpowiedzi)					
		Mleczne p.f.	Mięsne p.f.	Rybne p.f.	Warzywa kiszone	Sojowe p.f.	Napoje f.
Niemcy	Nie lubię	0	14	21	3	14	24
	Ani nie lubię, ani lubię	17	14	41	28	21	41
	Lubię	83	72	38	69	66	34
Hiszpania	Nie lubię	0	14	24	38	14	31
	Ani nie lubię, ani lubię	7	3	34	24	21	48
	Lubię	93	83	41	38	66	21
Chorwacja	Nie lubię	0	4	18	7	43	32
	Ani nie lubię, ani lubię	0	18	29	32	36	68
	Lubię	100	79	54	61	21	0
Wyspy Brytyjskie	Nie lubię	13	37	77	47	30	57
	Ani nie lubię, ani lubię	3	13	17	23	20	27
	Lubię	83	50	7	30	50	17
Polska	Nie lubię	7	20	37	10	33	43
	Ani nie lubię, ani lubię	13	33	47	27	20	47
	Lubię	80	47	17	63	47	10

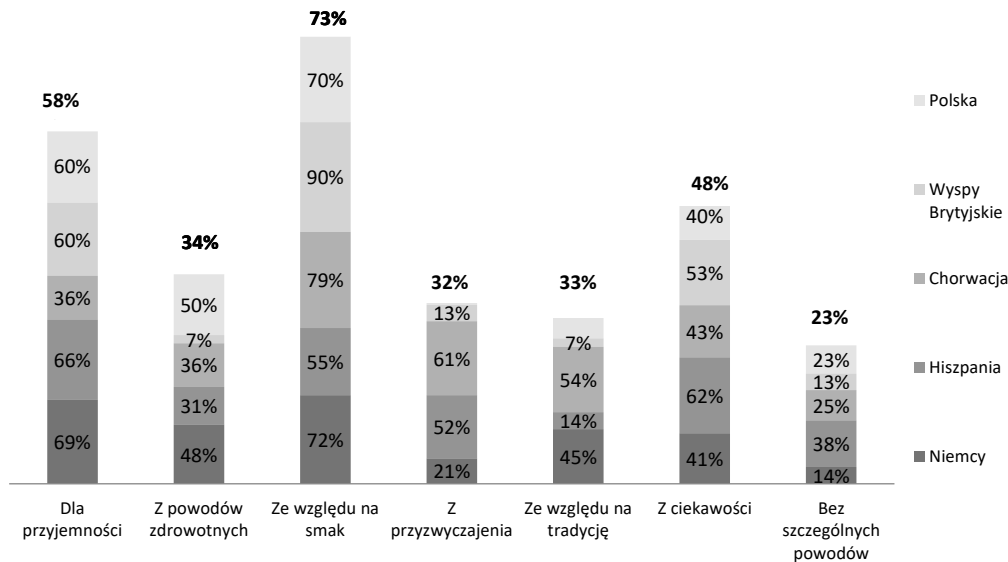
Źródło: opracowanie własne.

Na rysunku 1 zaprezentowano wyniki uzyskane w pytaniu o powody, dla których respondenci spożywają lub spożywaliby produkty fermentowane.

Najczęściej wskazywanym powodem spożywania produktów fermentowanych w zestawieniu ogólnym były walory smakowe (73%) i przyjemność (58%). Walory smakowe stanowiły powód spożywania tych produktów dla 90% mieszkańców Wysp Brytyjskich, 79% Chorwatów, 70% Polaków, 72% Niemców (respondenci w obrębie wyżej wymienionych grup najczęściej wskazywali smak) i 55% Hiszpanów. Wśród ankietowanych Hiszpanów, najczęściej wskazywanym powodem spożywania produktów fermentowanych była przyjemność (66%). Pobudki zdrowotne, tradycja oraz przyzwyczajenie dla ogółu respondentów, wynosiły kolejno 34%, 33% oraz 32%, co stanowiło najniższy wynik wskazań. Ankietowani Polacy najrzadziej wskazywali przyzwyczajenie (17%) a mieszkańcy Wysp

Brytyjskich zdrowie (7%) oraz tradycję (7%). Pobudki zdrowotne najczęściej wskazywane były przez Polaków (50%) i Niemców (48%). 23% spośród wszystkich respondentów, nie wskazało szczególnych powodów, dla których mieliby spożywać produkty fermentowane.

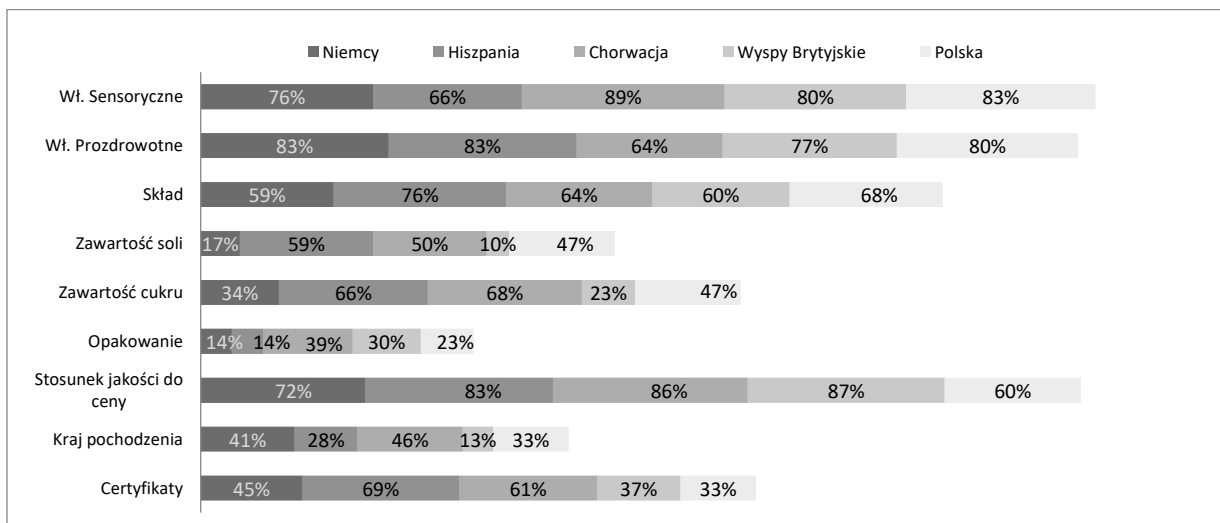
Rysunek 1. Powody spożywania produktów fermentowanych



Źródło: opracowanie własne.

Kolejne pytanie miało na celu weryfikację najistotniejszych właściwości produktów fermentowanych dla respondentów (rysunek 2). Analizie poddano istotność właściwości sensorycznych, właściwości prozdrowotnych, składu, zawartości soli i cukru, wyglądu opakowania, stosunku jakości do ceny, kraju pochodzenia produktu oraz certyfikatów jakie posiada.

Rysunek 2. Istotność poszczególnych cech produktów



Źródło: opracowanie własne.

W zestawieniu ogólnym, najwyższy procent ankietowanych wskazywało właściwości sensoryczne (89% Chorwatów; 83% Polaków; 80% mieszkańców Wysp Brytyjskich; 76% Niemców; 66% Hiszpanów), właściwości prozdrowotne (83% Niemców; 83% Hiszpanów 80% Polaków; 77% mieszkańców Wysp Brytyjskich; 64% Chorwatów) oraz stosunek jakości do ceny (87% mieszkańców Wysp Brytyjskich; 86% Chorwatów; 83% Hiszpanów; 72% Niemców; 60% Polaków). Jako najbardziej istotne, podczas kupna produktów fermentowanych, wyżej wymienione wyróżniki uzyskały największy udział procentowy odpowiedzi w zestawieniach dla ankietowanych z poszczególnych krajów. Za istotnością zawartość soli i cukru opowiedziały się ponad połowa Hiszpanów (66% - zawartość soli; 59% - zawartość cukru) i Chorwatów (68% - zawartość soli; 50% - zawartość cukru), co stanowiło największy odsetek wskazań dla tych cech. Najmniejsze znaczenie dla ankietowanych ogółem miało wygląd opakowania oraz kraj pochodzenia produktu. W obrębie grupy, badani Niemcy jako najmniej istotną cechę, wskazali opakowanie (14%) i zawartość soli (17%), Hiszpanie (14%) oraz Chorwaci (39%) opakowanie, mieszkańcy Wysp Brytyjskich zawartość soli (10%) i kraj pochodzenia (13%), a Polacy kraj pochodzenia (33%) oraz posiadanie certyfikatów (33%).

Dyskusja

Uzyskane wyniki dowiodły, iż dla większości respondentów spośród wszystkich analizowanych grup najbardziej znane, najczęściej oraz najchętniej spożywane okazały się być mleczne produkty fermentowane, co przekłada się na dane, zaprezentowane przez Komisję Europejską w raporcie „EU agricultural markets and income 2016-2026”, które prognozowały, że w latach 2017-2026, spożycie tradycyjnych produktów mleczarskich (np. sery, jogurty) na rynku wzrośnie. W latach 2014-2016, spożycie serów w UE w przeliczeniu na jednego mieszkańca, wzrosło o 1,1 kg do 18,2 kg rocznie.

W raporcie z roku 2018 „EU agricultural markets and income 2018-2030” KE przewiduje, że na przypuszczalny spadek poziomu konsumpcji produktów mleczarskich w przyszłości (w tym fermentowanych produktów mleczarskich), mogą wywrzeć negatywny wpływ kampanie promujące redukcję spożycia wyrobów mlecznych, zwiększająca się świadomość społeczeństwa na temat roli produkcji zwierzęcej, we wzroście śladu węglowego i postępu zmian klimatu czy wzrastająca liczba osób skarżących się na nietolerancję laktozy. Domniemywa się, że powyższe czynniki wpływają na zmiany

zachowań konsumentów na rynku (w tym produktów fermentowanych), co może mieć przełożenie na wyniki uzyskane w ankiecie. Zauważono wzrost znaczenia sojowych produktów fermentowanych wśród respondentów z Niemiec, Hiszpanii i Polski, którzy wskazali, że wyżej wymienione produkty, zyskują na popularności w ich krajach. Dodatkowo, znaczny odsetek respondentów z Niemiec, wskazał na napoje fermentowane jako produkty wpisujące się w ten trend.

Na drugim miejscu, względem popularności w klasyfikacji generalnej, znajdują się mięsne produkty fermentowane, które najchętniej spożywane i najbardziej lubiane są wśród respondentów z Hiszpanii, a najmniej lubiane wśród Polaków. Może mieć to związek z faktem, iż spożycie mięsa w Hiszpanii jest znacznie wyższe, niż średnia europejska. Według niektórych źródeł, Hiszpania znajduje się na drugim miejscu krajów europejskich, w których spożywa się go najwięcej (Alcalde i in. 2015).

Wywnioskowano również, że badani respondenci z Niemiec, Chorwacji i Polski, chętniej i częściej spożywają kiszone warzywa, w porównaniu do ankietowanych Hiszpanów lub mieszkańców Wysp Brytyjskich, gdzie są one głęboko zakorzenione w kulturze i tradycji, na przykład ogórki kiszone będące typowym polskim przysmakiem, czy kiszona kapusta (niem. *sauerkraut*; chorw. *kiseli kupus*), która uważana jest za tradycyjny produkt wywodzący się z Niemiec (Chilton i in. 2015), a chorwacki „Ogulinski kiseli kupus” zarejestrowany jest na unijnej liście nazw chronionych. Ankietowani Polacy, Chorwaci i Niemcy również wykazali podobieństwo w stosunku do częstszego, w porównaniu do innych grup, wskazywania tradycji, jako powodu spożywania produktów fermentowanych. Fakt ten może mieć związek z silnym przywiązaniem do kultury i dziedzictwa, co nie było istotne dla większości ankietowanych z Hiszpanii i Wysp Brytyjskich, którzy dla głównych powodów konsumpcji wskazywali znaczenie smaku i przyjemności. Również podobną tendencję zauważono, analizując zachowania nabywcze. Znaczenie kraju pochodzenia produktu było wskazywane jako istotne najczęściej przez ankietowanych Niemców oraz Chorwatów. Dla większości respondentów, spośród wszystkich narodowości, istotne znaczenie mają właściwości sensoryczne, właściwości prozdrowotne oraz stosunek jakości do ceny.

Podsumowanie

Hipoteza została zweryfikowana częściowo pozytywnie. Dane prezentowane w europejskich raportach oraz pracach badawczych na temat zachowania europejskich konsumentów na rynku produktów spożywczych, determinują również postawy konsumentów

na rynku produktów fermentowanych, co częściowo miało odzwierciedlenie w wynikach przeprowadzonej ankiety.

Istotne różnice w zachowaniach konsumentów, pośród badanych grup, wykazano podczas analizy powodów spożywania produktów fermentowanych, istotności cech produktów, chęci oraz częstotliwości spożycia rybnych produktów fermentowanych i warzyw kiszonych. Warzywa kiszone najchętniej spożywane są przez Niemców, Polaków i Chorwatów, gdzie produkty te są dobrze znane.

Nie wykazano znaczących różnic w podstawach wobec mlecznych produktów fermentowanych oraz ich popularności w poszczególnych krajach. Większość ankietowanych, spośród wszystkich grup zadeklarowała, że lubi ten rodzaj wyrobów. Produkty te najczęściej spożywane są przez ankietowanych Niemców i Hiszpanów, którzy w największej liczbie deklarują ich codzienne spożycie.

Najmniej powszechnymi produktami spośród wszystkich analizowanych kategorii były napoje fermentowane na bazie surowców roślinnych, które są relatywnie nowymi wyrobami na rynku produktów fermentowanych w stosunku do powszechnie dostępnych produktów, takich jak sery, czy jogurty.

Literatura

- Alcalde M. J., Ripoll G., Panea B., 2015. *Consumer attitudes towards meat consumption in Spain with special reference to quality marks and kid meat*. *Consumer Attitudes to Food Quality Products*, 133: 97-106.
- Chilton S. N., Burton J. P., Reid G. 2015. *Inclusion of Fermented Foods in Food Guides around the World*. *Nutrients*, 7: 390-404;
- Jägerstad, M., Piironen V., Walker C., Ros G., Carnovale E., Holasova M., Nau H. 2005. *Increasing natural food folates through bioprocessing and biotechnology*. *Trends in Food Science and Technology*, 16: 298–306.
- Karyadi D., Lukito W. 2000. *Functional food and contemporary nutrition-health paradigm: tempeh and its potential beneficial effects in disease prevention and treatment*. *Nutrition*, 16 (697): 7-8.
- Kuligowski M., Nowak J. 2010. *Ocena możliwości adaptacji i zastosowania tradycyjnych azjatyckich technologii w produkcji żywności na rynek polski*. *Aparatura Badawcza i Dydaktyczna*, 15(3): 63-69.
- Marsh A. J., Hill C., Ross R. P., Cotter P. D. 2014. *Fermented beverages with health-promoting potential: Past and future perspectives*. *Trends in Food Science & Technology*, 38: 113-124.
- Smid E. J., Hugenholtz. J. 2010. *Functional genomics for food fermentation processes*. *Annual Review in Food Science and Technology*, 1: 497–519.

Portal Spożywczy. <http://www.portalspozywczy.pl/owoce-warzywa/wiadomosci/kiszona-kapusta-z-chorwacji-na-unijnej-liscie-nazw-chronionych,118740.html> (dostęp 20 lutego 2019 r.)

EU Agricultural outlook for markets and income. https://ec.europa.eu/agriculture/markets-and-prices/medium-term-outlook_en (dostęp 20 lutego 2019 r.)

Porównanie jakości sensorycznej jaj kurzych w zależności od miejsca pozyskania

A comparison of sensory quality of chicken eggs depending on the place of acquisition

Paulina Janducha

Uniwersytet Morski w Gdyni
Wydział Przedsiębiorczości i Towaroznawstwa
Naukowe Koło Towaroznawstwa Cargo
Opiekun: dr inż. Przemysław Dmowski

Abstract

In the 21st century we see high levels of interest for ecological food. The most popular item in household and industry are chicken eggs because of their high nutritional value. These days consumers have a growing ecological awareness which has developed over recent years and they prefer eggs from ecological farms.

It was decided that more research was needed to compare the nutritional quality of ecologically farmed chicken eggs versus conventional farming methods. The research was carried out by selected students from Maritime University in Gdynia to check the sensory attributes depending on where the chicken eggs were purchased. The results of the experiment showed us that the ecological method of farming chicken eggs does not significantly enhance the sensory quality of the eggs.

Keywords: hen eggs, sensory quality, consumer preferences, ecological, conventional

Wstęp

Według encyklopedii PWN, jaja konsumpcyjne to jaja ptactwa domowego (głównie kur) przeznaczone do spożycia. Są wartościowym produktem odżywczym, w którym białko jaja składa się z ok. 86% wody i 12% białek (w tym 75% albumin, 25% globulin i mucyn), żółtko zawiera około 50% wody, 16% białek, 31% tłuszczów (zwłaszcza lecytyny), 1% soli mineralnych (wapń, fosfor, żelazo), także cholesterol, witaminy A, B1, B2. Średnia masa jaja kurzego to 58 g. Wartość energetyczna 100 g masy jajowej wynosi ok. 658 kJ, co odpowiada 157 kcal.

Głównymi częściami budowy jaja są: białko, które stanowi 55,8%, żółtko stanowiące 31,9% masy jaja oraz skorupa, której udział procentowy wynosi 12,3% (Przybyłowski i Dmowski 2013). Białko jaja kurzego ma najwyższą wartość biologiczną wśród wszystkich produktów, gdyż zawiera aminokwasy egzogenne, w ilości idealnie uzupełniającej zapotrzebowanie organizmu ludzkiego, niezbędne do budowy masy mięśniowej. Żółtko zaś zawiera tłuszcz oraz znaczne ilości cholesterolu. Lipidy jaja to również glicerydy kwasu

oleinowego i palmitynowego, niezbędne nienasycone kwasy tłuszczowe oraz fosfolipidy (lecycyny). Żółtka jajek są źródłem witamin A, D, E i K (witamin rozpuszczalnych w tłuszczach) oraz witamin z grupy B, głównie witaminy B2 (Świdorski 1999). Jajo zawiera wszystkie składniki pokarmowe niezbędne zarodkowi oraz cechuje się wysoką wartością odżywczą. Jego cechy smakowe oraz przyswajalność pokarmowa powodują, że jest jednym z najważniejszych artykułów spożywczych pochodzenia zwierzęcego.

Jajo cechuje się charakterystycznym kształtem elipsy skorupki, która jest zwężona w jednym z końców oraz idealnym, okrągłym poprzecznym przekrojem, bez względu na miejsce cięcia (Cejnowa 2001). Skorupki sprzedawanych jaj powinny być oznakowane w sposób czytelny i nieszkodliwy dla zdrowia. Zasady znakowania jaj konsumpcyjnych reguluje Rozporządzenie Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z 28.06.2004 r. Taki kod składa się z oznaczenia systemu chowu kur, w którym „0” oznacza chów ekologiczny, „1” wolny wybieg, „2” ściółkowy, a „3” klatkowy, oznaczenia państwa członkowskiego (np. PL), oraz weterynaryjnego numeru identyfikacyjnego. Małe gospodarstwa, które mają nie więcej niż 50 kur niosek i sprzedają jaja na rynku lokalnym, nie muszą ich znakować. Za to w miejscu sprzedaży jaj, obowiązkowo zapewnia się widoczne dla konsumenta informacje związane z nazwą producenta jaj, adres, numer odróżniający producenta i datę minimalnej trwałości (Przybylak 2012). Jakość jaj, jak i ich skład, zależą m.in. od pochodzenia kury, wieku, żywienia ptaków i czynników środowiskowych (Cejnowa 2001).

Zgodnie z Rozporządzeniem Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dnia 5.08.2003r., wyróżnia się następujące klasy jakości handlowej jaj :

- Klasa „A”- jaja świeże oraz extra świeże, których wysokość komory powietrznej nie przekracza 4 mm w czasie 9 dni od ich zniesienia,
- Klasa „B”- jaja utrwalone oraz inne, które spełniają wymagania rozporządzenia,
- Klasa „C”- jaja niesortowane, przeznaczone do przemysłu i przetwórstwa rolno-spożywczego, które nie spełniają wymagań dla jaj klasy „A” ani „B”.

Dodatkowo na jakość (nie tylko sensoryczną) wpływa długość oraz sposób przechowywania jaj. W marketach zazwyczaj są przechowywane dłużej i w innych warunkach niż w sklepach ekologicznych. Jaja powinny być przechowywane w lodówce nie dłużej niż 3 tygodnie. Termin przydatności do spożycia jaj wynosi 28 dni od zapakowania, a czas transportu z kurnika i pakowania nie może być dłuższy niż trzy dni.

Według Światowej Organizacji Zdrowia, zdrowy człowiek może spożywać do 10 jaj tygodniowo (wliczając w to jaja spożywane jako składnik różnych pokarmów). Spożycie jwiąże się przede wszystkim z konsumpcją jaj kurzych, w mniejszym stopniu jaj przepiórczych, kaczych czy perliczych. Jest to związane z przewagą na rynku polskim jaj kurzych, czyli pochodzących od kur niosek w skorupach, przeznaczonych do bezpośredniego spożycia przez ludzi albo do przetwórstwa. W Polsce, według Instytutu Ekonomiki Rolnictwa i Gospodarki Żywnościowej, rocznie spożywa się ok 206 jaj na osobę (Sowa-Lewandowska 2018).

Prowadzenie chowu ekologicznego, zgodnie ze wszystkimi wytycznymi żywieniowymi, sanitarnymi i weterynaryjnymi związane jest z wysokimi kosztami w porównaniu z pozostałymi metodami. Są one około 10% wyższe, a co za tym idzie jaja ekologiczne są droższe (o ok.6zł/10szt). Związane jest to również z niewielką liczbą gospodarstw, które zajmują się ekologicznym chowem kur (Krupa 2016). Sposób karmienia i chowu kur niosek wpływa na jakość jaj. Dlatego coraz więcej konsumentów wybiera jaja ekologiczne z przeświadczeniem o ich dobrej jakości. Zgodny z naturą chów zapewnia kurom możliwość dostępu do świeżego powietrza i naturalnego pokarmu. Pomimo, iż jaja ekologiczne nazywa się często „jajami od szczęśliwych kur”, bardziej istotnym czynnikiem wpływającym na ich jakość, jest sposób żywienia ptaków niż sam chów. W rolnictwie ekologicznym stosuje się pasze oparte na składnikach naturalnych. Kury przebywają również na świeżym powietrzu i mogą samodzielnie szukać pokarmu. Takiej możliwości nie ma w przypadku chowu klatkowego czy też ściółkowego. Tak więc jaja "jedyńki" pochodzą od kur mających dostęp do wyścielonego ściółką pomieszczenia oraz do wybiegu na świeżym powietrzu, co przekłada się na nieco gorsze warunki sanitarne, niż w systemach zamkniętych. Chów wolno-wybiegowy jest mniej efektywny ekonomicznie niż klatkowy czy ściółkowy, głównie ze względu na utrzymanie odpowiedniej jakości wybiegów i często trudnych warunków pogodowych. Przekłada się za to na wyższą cenę jaj. "Zerówki" natomiast to jaja z chowu ekologicznego. Ptaki mają zapewnione takie same warunki, jak w wypadku chowu wolno-wybiegowego. Zasadnicza różnica występuje w rodzaju stosowanych pasz, które w tym przypadku są ekologiczne. Jeśli stado zachoruje i zastosowany zostanie antybiotyk, wówczas jaja nie mogą być sprzedawane (Wysoczańska 2017).

Wysokie ceny jaj ekologicznych (wyższe o ok.50% od pozostałych), a zwłaszcza wzrastający na nie popyt powoduje, że na rynku coraz więcej jest „zerówek” bez certyfikatu i pieczętek. Konsument nie jest świadomy, że pochodzenie i jakość jaj nie zawsze jest znana. Istnieje możliwość natrafienia na jaja zakażone lub nieświeże. Dlatego najważniejsze jest znane

źródło zakupu. O warunkach i sposobie prowadzenia hodowli, a więc o jakości jaj z wolnego wybiegu można uzyskać niewiele informacji, natomiast o pochodzeniu jaj ekologicznych wszelkie informacje są dostępne. Wymagania przeciętnego nabywcy jaj spożywczych zawiązują się jedynie do cech wyglądu zewnętrznego. Potwierdzają to badania Profesor Śmiechowskiej oraz Witt z 2006 roku, w których to co dziesiąty respondent nie sprawdza daty ważności produktu ufając sprzedawcy. Pochodzenie jaj nie wzbudza większego zainteresowania wśród nabywców. Z badań tych można wywnioskować, iż konsumenci nie posiadają wiedzy na temat jaj kurzych.

Cel i metoda badawcza

Celem pracy było zbadanie decyzji zakupowych oraz konsumentcka ocena sensoryczna jaj kurzych z hodowli ekologicznej i konwencjonalnej. Sformułowano następujące hipotezy badawcze:

1. Sposób hodowli kur istotnie wpływa na decyzje zakupowe konsumentów jaj kurzych
2. Jakość sensoryczna jaj ekologicznych i jaj konwencjonalnych różni się

Materiał badawczy stanowiły jaja deklarowane jako ekologiczne (ze sklepu ekologicznego) oraz deklarowane jaja konwencjonalne (z marketu), pochodzące od kur z wolnego wybiegu. Deklaracje te wynikały z oznaczeń na skorupie. Do badań wybrano tylko jaja kategorii wagowej M.

Ocenie sensorycznej poddane zostały odpowiednio podpisane kodem trzycyfrowym próbki jaja ekologicznego oraz konwencjonalnego. Próbkę stanowiło zagotowane na twardo, obrane oraz przekrojone na pół jajo ekologiczne oraz konwencjonalne. W badaniu wzięło udział 60 studentów Uniwersytetu Morskiego w Gdyni (35 kobiet, 25 mężczyzn). Odczuwanie smaku może mieć podłoże hormonalne, a na pewno jest zależne od wieku. Ankietowana grupa charakteryzowała się przedziałem wiekowym 20-25 lat czyli takim, w którym osiąga się najwyższy poziom wrażliwości smakowej. Wynika to z zależności między odczuwaniem smaku i działaniem hormonów oraz jest związane z wiekiem osoby badanej (Baryłko-Pikielna 2009).

Badanie składało się z dwóch etapów. W pierwszym etapie zapytano ankietowanych o preferencje zakupowe jaj, następnie oceniający otrzymali odpowiednio zakodowane próbki jaj. Respondenci nie znali ich pochodzenia. Zadaniem oceniających była ocena sensoryczna oraz pożądalności tych próbek pod względem barwy, zapachu, konsystencji i smaku. Do oceny pożądalności zastosowano pięciopunktową skalę hedoniczną, gdzie 1 oznaczało „wybitnie mi

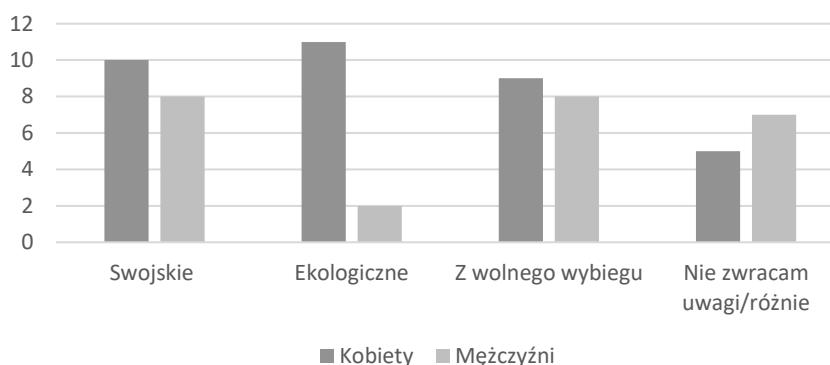
nie odpowiada, natomiast 5 „bardzo mi odpowiada,, (Babicz-Zielińska i in. 2016). Przy określaniu barwy żółtka i białka próbki, również zastosowano 5-punktową skalę, gdzie 1 oznaczało bardzo słabą, 2-słaba, 3- ani słabą ani intensywną, 4- silna, a 5- bardzo silną barwę.

W drugim etapie zapytano, czy kiedykolwiek spożywali jajo ekologiczne oraz te z marketu. Następnie ujawniono badanym pochodzenie jaj. Zadaniem respondentów było wskazanie próbki jaja konwencjonalnego oraz ekologicznego.

Wyniki badań

Pierwsze pytanie ankiety dotyczyło decyzji zakupowych. Odpowiedzi przedstawiono na rysunku 1. Kupno jaj ekologicznych zadeklarowało 31% ankietowanych kobiet oraz 8% oceniających mężczyzn. Około 30% respondentów obu płci najczęściej kupuje jaja swojskie lub z wolnego wybiegu. 14% kobiet i 28% ankietowanych mężczyzn nie zwraca uwagi na to jakie jaja kupują, jest im to obojętne. Żaden z ankietowanych nie zadeklarował kupna jaj z marketu z chowu klatkowego i z chowu ściółkowego.

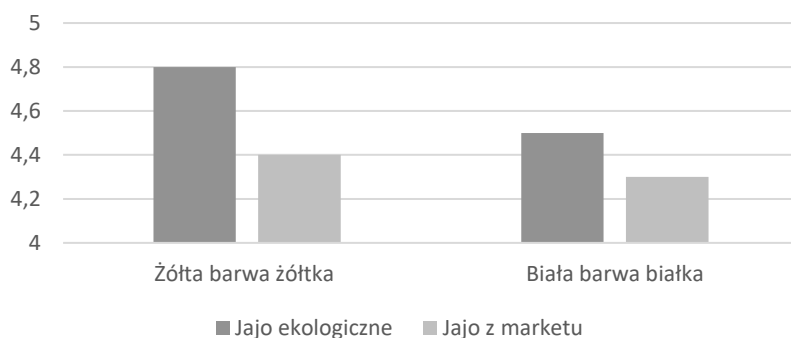
Rysunek 1. Rodzaj kupowanych jaj kurzych przez oceniających



Źródło: Opracowanie własne.

Następnie poproszono o ocenę intensywności barwy badanych próbek. Wyniki obrazuje rysunek 2. Ankietowani studenci wyżej punktowali intensywność koloru białka oraz żółtka jaja ekologicznego. Zdaniem oceniających, kolor jaja ekologicznego po ugotowaniu, miał silniejsze nasycenie niż jaja konwencjonalnego. Kolor żółtka jaja ekologicznego został oceniony na poziomie 4,8 a jaja z marketu 4,4. Białko jaja ekologicznego oceniono na 4,5 pkt, zaś jaja konwencjonalnego na 4,3.

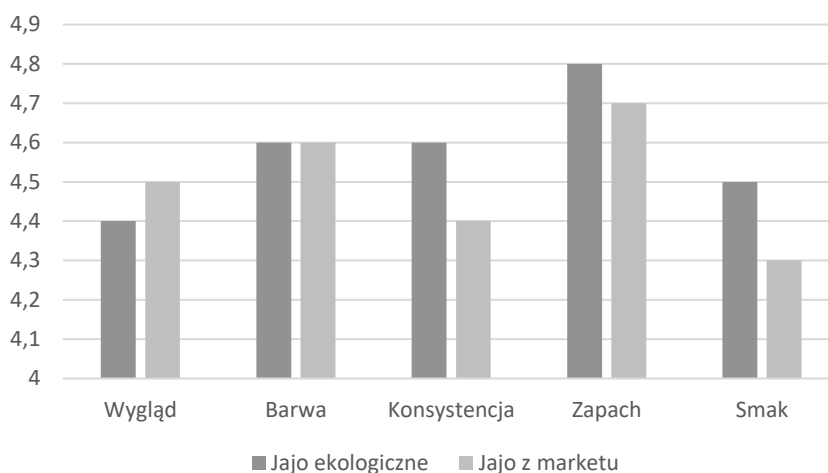
Rysunek 2. Ocena intensywności barwy białka i żółtka przez ankietowanych



Źródło: Opracowanie własne.

Wyniki oceny pożądalności pod względem wyglądu, barwy, zapachu, konsystencji oraz smaku badanych jaj przedstawiono na rysunku 3.

Rysunek 3 Ocena pożądalności wyglądu, barwy, zapachu, konsystencji oraz smaku badanych próbek



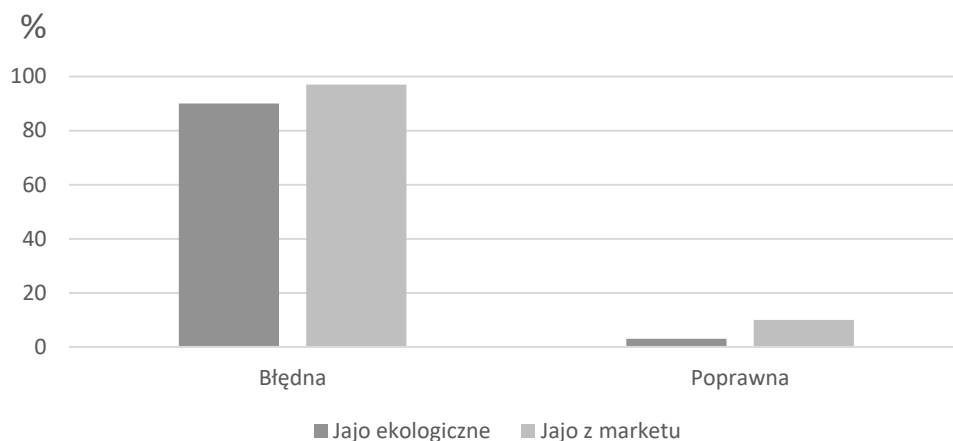
Źródło: Opracowanie własne.

Zapach był najwyżej ocenioną cechą: 4,8 (jajo ekologiczne) oraz 4,7 (konwencjonalne). Zapach nie był drażniący dla ankietowanych oraz został uznany za charakterystyczny dla ugotowanych jaj. Wygląd próbek respondenci ocenili również na zbliżonym poziomie: 4,4 oraz 4,5. Pożądalność barwy obu jaj oceniono tak samo (4,6). Konsystencja oraz smak jaja ekologicznego uzyskała wyższe noty (odpowiednio 4,6 i 4,5) niż jaja z marketu (4,4 oraz 4,3).

W drugim etapie badań, znaczna większość (83,8%) respondentów zadeklarowała, że przynajmniej raz w życiu jadła jaja ze sklepu ekologicznego. Wszyscy ankietowani potwierdzili co najmniej jednokrotne spożycie jaja z marketu.

Następnie poproszono oceniających o zidentyfikowanie próbek oraz wskazanie, która z nich jest jajem konwencjonalnym, a która pochodzi ze sklepu ekologicznego. Wyniki tej części badania przedstawiono na rysunku 4.

Rysunek 4 Zidentyfikowanie próbek przez respondentów



Źródło: Opracowanie własne.

Przy próbie identyfikacji pochodzenia próbek, znaczna większość ankietowanych studentów - 90% i 97% błędnie zidentyfikowała próbki kolejno jaj ekologicznych i konwencjonalnych. Nieznaczna część respondentów rozpoznała jajo ze sklepu ekologicznego (3%) oraz z marketu (10%).

Dyskusja

Z otrzymanych wyników badania, można wywnioskować, iż kobiety z grupy respondentów, bardziej zwracają uwagę na pochodzenie jaj czy rodzaj chowu kur przy zakupie. Głównie kobiety deklarowały zakup jaj od rolnika czy ekologicznych. Respondenci wyżej ocenili barwę żółtka i białka jaja ekologicznego, co może świadczyć o większej zawartości barwników, witamin i świeżości tego jaja. Kolor żółtka jaja ze sklepu ekologicznego został uznany w badaniu za ciemniejszy niż jaja z marketu. Według Dr Thesmar'a (dyrektora programów bezpieczeństwa żywności), ciemniejsze żółtka pochodzą od kur z wolnego wybiegu (Krzpiet 2019). Kury te mają więcej przestrzeni oraz możliwość na rozbudowaną naturalną dietę roślinną lub dostarczane są im ekologiczne pasze. Kury z chowu konwencjonalnego zaś, najczęściej karmione są paszą zawierającą GMO. Dzięki wszelkim dodatkom, kury takie składają 10 razy więcej jaj niż te z chowu ekologicznego. Wpływ na kolor żółtka ma pasza, w której mogą być zawarte rośliny, susz i warzywa. Elementami stałymi znajdującymi

się w pokarmie są naturalne barwniki – ksantofile, mające żółte zabarwienie. Od ich ilości zależy intensywność barwy żółtka. Jednakże zarówno w chowie "eko", jak i przemysłowym, przy zastosowaniu odpowiednich związków w diecie ptaków, można wpłynąć na kolor żółtka. Według badań przeprowadzonych przez naukowców z Uniwersytetu w Pensylwanii, jaja z ciemnym żółtkiem są o wiele bogatsze w witaminy typu A, D i E, ksantofil, beta-karoten i omega-3. W związku z tym, im bardziej intensywny kolor żółtka, tym więcej składników odżywczych zostaje dostarczonych organizmowi. Barwa białka również informuje o jakości jaja. Jego biała barwa świadczy o tym, że jajo jest świeże. Im bardziej białko jest przezroczyste, tym niższa jakość produktu (Krzpiał 2019).

Wszystkie noty (wyglądu, barwy, konsystencji, zapachu i smaku) są bardzo zbliżone, więc można wywnioskować, iż obie próbki są jednakowo pożądane przez konsumentów. Świadczy to o braku znacznych różnic pod względem jakości sensorycznej między jajem konwencjonalnym a ekologicznym. Prawidłowe zidentyfikowanie próbek sprawiło ankietowanym wiele trudności.

Jaja kurze są na jednym z pierwszych miejsc listy zakupowej Polaków. Ze względu na panującą modę zdrowego odżywiania oraz produktów ekologicznych, coraz więcej osób sięga po jaja ekologiczne. Konsumentów wybierając jaja, kierują się takimi cechami jakościowymi jak: świeżość, barwa żółtka, barwa i wytrzymałość skorupy, smak jaj, czystość jaj i (w mniejszym stopniu) ich pochodzenie. Determinantą popytu na jaja jest również ich cena, opakowanie i masa, jednakże te nie były badane w owej pracy. Nie każdy konsument zdaje sobie sprawę z tego, co wpływa na jakość kupowanych jaj, a co za tym idzie, nie zwracają uwagi na informacje zawarte na opakowaniu.

Podsumowanie

Od dłuższego czasu obserwuje się zwiększone zainteresowanie żywnością ekologiczną, w tym jajami ekologicznymi (Newerli-Guz, Śmiechowska 2004). Widoczny jest również wzrost zapotrzebowania na żywność ekologiczną, uważaną za bezpieczną dla zdrowia, smaczną i o dobrych właściwościach odżywczych. Produkcja żywności ekologicznej, określona w specjalnych normach, uważana jest za przyjazną środowisku. Niektórzy naukowcy uważają, że tylko część respondentów zwraca uwagę na informacje o producentach jaj (Trziszka i in. 2006). Podobne wyniki otrzymały również Śmiechowska i Witt (2015).

Uzyskane wyniki pozwoliły na weryfikację przedstawionych w pracy hipotez oraz na sformułowanie następujących stwierdzeń i wniosków:

- Jaja deklarowane jako ekologiczne otrzymały nieznacznie wyższe noty jakości sensorycznej niż jaja deklarowane jako konwencjonalne.
- Uzyskane różnice były na tyle nieznaczające, że nie można jednoznacznie stwierdzić, iż sposób hodowli kur istotnie wpływa na wyższe walory jaj ekologicznych.

Mimo lepszych walorów jaj ekologicznych, spowodowanych stosowaniem naturalnych karm dla kur, innym składem chemicznym oraz większą korzyścią dla zdrowia człowieka, respondenci nie są w stanie ich rozpoznać poprzez ocenę sensoryczną. Można stwierdzić, iż jaja kurze zarówno ze sklepu ekologicznego, jak i z marketu, po zagotowaniu mają zbliżone walory sensoryczne. Powyższe wyniki pozwalają na pozytywne zweryfikowanie pierwszej hipotezy - sposób hodowli kur wpływa na decyzje zakupowe konsumentów jaj kurzych. Natomiast wyniki analizy sensorycznej uniemożliwiają pozytywne zweryfikowanie drugiej hipotezy - jakość sensoryczna jaj ekologicznych i jaj konwencjonalnych jest zbliżona.

Literatura

- Babicz-Zielińska E., Rybowska A., Obniska W. 2016. *Sensoryczna ocena jakości żywności*, Akademia Morska w Gdyni.
- Baryłko-Pikielna N., Matuszewska I. 2009. *Sensoryczne badania żywności*. Wydawnictwo Naukowe PTTŻ, Kraków.
- Biesiada-Drzazga B., Janocha A. 2009. *Wpływ pochodzenia i systemu utrzymania kur na jakość jaj spożywczych*. *Żywność/ Nauka /Technologia/ Jakość*, 3 (64): 69-70.
- Cejnowa I., 2001. *Klucz do zdrowego żywienia*. Oficyna Wydawnicza ABA.
- Dudek M., Rabsztyń M. 2011. *Egg quality of dual-purpose hens intended for small - scale farming*. *Acta Sci. Pol., Zootechnica*, 10 (1): 3-12.
- Encyklopedia PWN <https://sjp.pwn.pl/slowniki.html>.
- Krupa M., Witkiewicz R., Jacyk G. 2016. *Oplacalność produkcji w gospodarstwach ekologicznych uczestniczących w Polskim FADN*. *Fragm. Agron.* 33(3): 46–56.
- Krzpiał A., 2019. *Co kolor żółtka mówi o jajku?* <https://portal.abczdrowie.pl> (dostęp 5.01.2019r.).
- Newerli-Guz J., Śmiechowska M., 2004. *Organic food advantages in consumer's opinion*. *Bromat. Chem. Toksykol.*, 37 (supl.): 135-138, 7.
- Przybylak K., 2012. *Co kryją w sobie jaja eko?* www.biokurier.pl (dostęp 2.04.2012r.).
- Przybyłowski P., Dmowski P., 2013. *Jaja i Przetwory*. *Towaroznawstwo artykułów spożywczych cz.I.*: 11-23.
- Rozporządzenie Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dnia 5 sierpnia 2003 r. w sprawie jakości handlowej jaj kurzych. ISAP <http://prawo.sejm.gov.pl>.
- Sowa- Lewandowska K., 2018. *Skarby ukryte w jajach*. www.laboratoria.net (dostęp 22.02.2019r.).

- Świderski F., 1999. *Żywność wygodna i żywność funkcjonalna*, praca zbiorowa. Wydawnictwo Naukowo- Techniczne.
- Śmiechowska M., Witt P., 2015. Journal of Research and Applications in Agricultural Engineering.
- Trziszka T., Nowak M., Kaźmierska M., 2006. *Preferencje konsumentów jaj na rynku wrocławskim*. *Żywność/Nauka/Technologia/Jakość*,3 (48): 107-117.
- Wysoczańska A., 2017. *Skład jaj zależy od sposobu karmienia, a nie od rodzaju chowu*, SGGW. <http://naukawpolsce.pap.pl> (dostęp 07.11.2017r).

Czy zawartość tłuszczu ma wpływ na jakość sensoryczną pączków?

Does the fat content affect the sensory quality of doughnuts?

Izabella Matuszewska
Paulina Misiak

Uniwersytet Ekonomiczny w Poznaniu
Studenckie Koło Naukowe Towaroznawstwa Żywności SPECTRUM
Opiekun: dr inż. Maria Sielicka

Abstract

The aim of the project was to assess the influence of fat content on the sensory quality of doughnuts available in Poznań. The study examined 4 doughnuts available in traditional confectioneries (2), doughnut bakery (1) and discount stores (1).

An expert sensory evaluation was carried out among the 17 trained people. a 10-cm linear structured scale with marked beginning and end was used. The fat content was determined by extraction of fat with light petroleum in a fat extraction apparatus, and then the fat residue after evaporation of the solvent was determined by weight. Statistical analysis of data from sensory evaluation and fat content testing was carried out using two programs Statistica 13.3 and Microsoft Excel 2010.

On the basis of the results obtained, it was found, that the perceptibility of fatness and its presence in this type of confectionery has a significant influence on the sensory quality of doughnuts.

Keywords: fat, doughnuts, sensory quality

Wstęp

Pączki są wyrobem cukierniczym, zaliczonym do wyrobów nietrwałych (Kołóżyn-Krajewska i Sikora 2004). Do sporządzenia wypieku wykorzystywane są surowce takie jak: mąka pszenna, drożdże, cukier, sól, jaja, tłuszcz, mleko oraz dodatki nadające zapach i smak. Wnętrze pączka wypełniane jest nadzieniem, przeważnie marmoladą, bądź konfiturą. Wierzch pączka polewa się lukrem, rzadziej inną polewą, a niekiedy obsypuje cukrem pudrem (Dłużewski 2001a). Zazwyczaj ciasto sporządzane jest metodą dwufazową. Podzielone na kęsy ciasto, zaokrągla się i poddaje fermentacji w temperaturze około 30°C. Po wyrośnięciu ciasto poddaje się smażeniu w tłuszczu o temperaturze około 170°C przez 4-5 minut. Ostatnim krokiem jest polanie glazurą (Ambroziak 1999). Smażenie pączków w tłuszczu umożliwia kontrolowaną obróbkę termiczną. Dodatkowo pozwala uzyskać brązową i aromatyczną skórkę, o specyficznych właściwościach smakowo-zapachowych (Dłużewski 2001b, Gawęcki i Mossor-Pietraszewska 2004). Niestety, w efekcie zastosowania takiej obróbki, pączki

są bogatym źródłem tłuszczu, a co za tym idzie, charakteryzują się wysoką wartością energetyczną. Kalorie, które organizm otrzymuje z takiego tłuszczu, łatwiej magazynowane są w tkance tłuszczowej, a częstsze spożywanie smażonej żywności wiąże się z większym ryzykiem późniejszego wystąpienia nadwagi (Sayon-Orea i in. 2013).

Pączki w swym składzie zawierają również śladowe ilości witamin i mikroelementów. Zostały one przedstawione w tabeli 1.

Tabela 1. Witaminy i mikroelementy w 100g pączków

Sód	137 mg	β-karoten	117 μg
Potas	167 mg	Wit. D	0,58 μg
Wapń	48 mg	Wit. E	0,70 mg
Fosfor	120 mg	Tiamina	0,088 mg
Magnez	14 mg	Ryboflawina	0,18 mg
Żelazo	1,9 mg	Niacyna	0,75 mg
Wit. A	164 μg	Wit. C	0,3 mg
Wit.B6	0,07 mg	Wit. B12	0,54 μg

Źródło: Opracowanie własne na podstawie Kunachowicz i in. 2018.

W dzisiejszych czasach pączki cieszą się niezwykle popularnością, szczególnie w Tłusty Czwartek, który przypada w tygodniu przed Wielkim Postem (Antoniewski 2018). Jak podaje Portal Spożywczy, tego dnia Polacy jedzą średnio 4,6 pączka (portalspozywczy.pl 2019a). Biorąc pod uwagę średnią masę pączka – 80g, na podstawie tabeli wartości odżywczej pączków zamieszczonej w dalszej części artykułu (tabela 5), można obliczyć, że zawartość tłuszczu w takiej ilości pączków kształtuje się na poziomie około 57 g, natomiast wartość energetyczna to około 1500 kcal.

Mimo panujących trendów na zdrową i zbilansowaną dietę oraz żywność typu superfoods, pączki „dobrze sobie radzą” na polskim rynku. Dowodem na to są powstające nowe punkty sprzedaży – pączkarnie. Są one nakierowane wyłącznie na produkcję i sprzedaż pączków. Cieszą się dużym zainteresowaniem, szczególnie wśród młodego pokolenia, co potwierdzają badania preferencji konsumentów w zakresie pączków przeprowadzone wśród mieszkańców Poznania. Na ich podstawie można również stwierdzić, że starsi konsumenci preferują zakup pączków w małych lokalnych cukierniach. Jeżeli chodzi o kształt pączków to największą popularnością cieszą się pączki okrągłe, natomiast w przypadku nadzienia jest to marmolada różana, wieloowocowa i powidła (Matuszewska i Misiak 2018). Panujący trend nowych wrażeń zmysłowych, umożliwia pączkarniom tworzenie wielu wariantów,

wyjątkowych smaków i dodatków pączków, którymi konsumenci często chętnie dzielą się z innymi na portalach społecznościowych (portalspozywczy.pl 2019b).

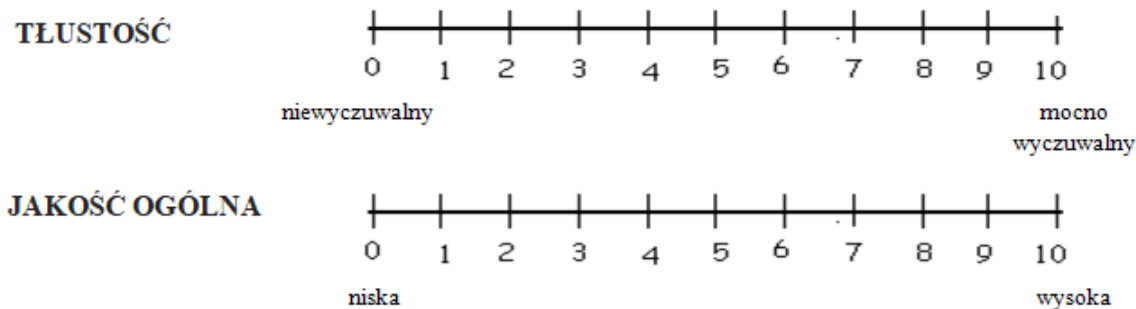
Cel i metoda badawcza

Celem projektu była ocena wpływu zawartości tłuszczu na jakość sensoryczną pączków dostępnych na poznańskim rynku. Badaniom poddano 4 pączki dostępne w tradycyjnych cukierniach: cukierni lokalnej oraz sieciowej, pączkarni i dyskoncie.

Próbki do badań zostały wybrane na podstawie badania preferencji konsumentów na rynku pączków, przeprowadzonego w marcu 2018 w oparciu o kwestionariusz ankiety internetowej wśród 272 respondentów, którzy deklaruwali zakup pączków w Poznaniu (dobór celowy). Pączki wykorzystane w badaniu sensorycznym, do oznaczania zawartości tłuszczu i suchej masy, zakupiono w jednym czasie i miejscu.

W celu określenia jakości sensorycznej badanego materiału, przeprowadzono ekspercką ocenę sensoryczną wśród 17 przeszkolonych osób (kwiecień 2018). Każdy z uczestników otrzymał po pół pączka danego rodzaju. Do badania zastosowano 10-cm skalę liniową strukturowaną z oznaczonym początkiem i końcem, opisaną w zależności od rodzaju ocenianej cechy. Fragment kwestionariusza stosowanego do oceny przedstawia rysunek 1.

Rysunek 1. Skala strukturowana zastosowana w badaniu



Źródło: Opracowanie własne.

Ocenie poddano następujące cechy: barwę skórki, barwę ciasta, elastyczność ciasta, zapach słodki ciasta, zapach obcy ciasta, smak słodki ciasta, smak obcy ciasta, tłustość oraz jakość ogólną. W przypadku tłustości oraz jakości ogólnej, oceniano ciasto razem ze skórką. Przy ocenie wyróżników sensorycznych nie brano pod uwagę lukru ani nadzienia.

Średnią masę pączków wyznaczono ważąc po 4 próbki z każdego rodzaju pączków. Oznaczanie zawartości tłuszczu przeprowadzono pobierając odpowiednią ilość materiału z 3 pączków danego rodzaju. Pączki przygotowano jednakowo. Badane wyroby pozbawiono lukru poprzez mechaniczne ścieranie nożem. Następnie pobrano około 5 g, tak by zachowała się część skórki i miękiszu (ciasta), bez nadzienia. Próbki wstępnie podsuszono, rozdrobniono w moździerzu i dokładnie wymieszano. Do gilzy ekstrakcyjnej odważono 3 g tak przygotowanych wyrobów i przykryto je zwitkiem waty bawełnianej. Naczynka ekstrakcyjne z porcelankami zważono, napełniono 50 cm³ eteru naftowego i przeprowadzono ekstrakcję tłuszczu w aparacie do tego przeznaczonym, a następnie wagowo oznaczono pozostałość tłuszczu po odparowaniu rozpuszczalnika.

W celu oznaczenia zawartości suchej masy, pobrano 2 g ciasta ze skórką, bez nadzienia oraz lukru i wysuszono do stałej masy. Do suszenia użyto piasku w celu zwiększenia powierzchni parowania badanej próbki. Zawartość suchej masy obliczono wyznaczając procentowy stosunek masy próbki po suszeniu do jej masy przed suszeniem.

Analizę statystyczną danych dotyczących oceny sensorycznej oraz oznaczenia parametrów fizykochemicznych przeprowadzono przy użyciu dwóch programów Statistica 13.3 i Microsoft Excel 2010. W programie Microsoft Excel 2010 obliczono podstawowe miary takie jak: średnia i odchylenie standardowe, a następnie w celu zweryfikowania istotności różnic pomiędzy wartościami średnimi, przeprowadzono analizę wariacji ANOVA z testem post-hoc Tukey'a, przy poziomie istotności $p < 0,05$.

Wyniki badań

Na podstawie badań sensorycznych można stwierdzić, iż pod względem barwy skórki, najciemniejsze okazały się pączki pochodzące z cukierni lokalnej (7,7) i pączkarni (6,8) a najjaśniejsze - pączki z dyskontu (3,7). Z kolei pączki z pączkarni, charakteryzowały się istotnie najintensywniejszą barwą ciasta (intensywnie żółta) na poziomie 6,4 w skali 0-10. Barwa ciasta pozostałych pączków była znacznie jaśniejsza na zbliżonym poziomie (2,7 - 3,5). Wyroby pochodzące z dyskontu, miały najmniej elastyczne ciasto w porównaniu z pozostałymi próbkami.

Badani wskazali, że pączki z pączkarni miały bardziej wyczuwalny słodki zapach ciasta (4,7) niż pączki z dyskontu (2,4). Również zapach obcy był silniej wyczuwalny w badanych wyrobach z pączkarni (4,4), a statystycznie najdelikatniej w wyrobach z cukierni lokalnej (1,9). Intensywność smaku słodkiego ciasta była na zbliżonym, umiarkowanym poziomie

w wyrobach z cukierni sieciowej (5,2), lokalnej (4,7) i z pączkarni (4,7), natomiast w pączkach z dyskontu była wyczuwalna istotnie mniej (2,6). Smak obcy ciasta był najbardziej wyczuwalny w pączkach z pączkarni (4,4) a najmniej wyczuwalny w pączkach pochodzących z cukierni sieciowej (2,1). Istotnie, najbardziej wyczuwalną tłustość, odnotowano w pączkach z pączkarni (6,3). Umiarkowana tłustość charakteryzowała pączki z cukierni sieciowej (4,2) i lokalnej (4,1), natomiast statystycznie najmniej wyczuwalną tłustość miały pączki z dyskontu (1,7). Respondenci ocenili jakość ogólną pączków z cukierni lokalnej na poziomie 6,0, natomiast pączki z pączkarni na poziomie 5,4, a z cukierni sieciowej – 4,8. Zostały zatem ocenione na statystycznie tożsamym poziomie, natomiast pączki zakupione w dyskoncie, zostały ocenione najniżej – na poziomie 2,6. Wyniki ocen sensorycznych przedstawiono w tabeli 2.

Tabela 2. Profil sensoryczny badanych pączków

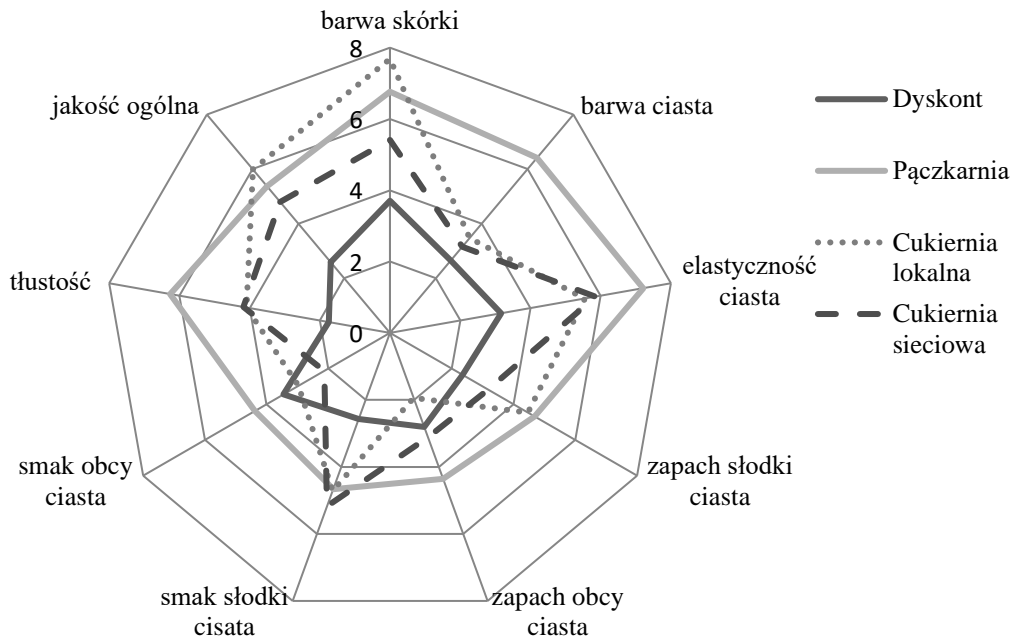
	Dyskont			Pączkarnia			Cukiernia lokalna			Cukiernia sieciowa		
Barwa skórki	3,7 ^c	±	1,4	6,8 ^a	±	0,8	7,7 ^a	±	1,3	5,4 ^b	±	1,2
Barwa ciasta	2,7 ^b	±	1,5	6,4 ^a	±	1,5	3,5 ^b	±	1,4	3,2 ^b	±	1,2
Elastyczność ciasta	3,2 ^b	±	1,8	7,2 ^a	±	2,3	5,5 ^a	±	1,3	5,9 ^a	±	2,1
Zapach słodki ciasta	2,4 ^b	±	1,9	4,7 ^a	±	2,9	4,5 ^{a,b}	±	2,7	3,2 ^{a,b}	±	2,0
Zapach obcy ciasta	2,8 ^{a,b}	±	2,8	4,4 ^a	±	3,2	1,9 ^b	±	1,7	3,1 ^{a,b}	±	2,3
Smak słodki ciasta	2,6 ^b	±	1,8	4,7 ^a	±	2,2	4,7 ^a	±	2,4	5,2 ^a	±	2,3
Smak obcy ciasta	3,5 ^{a,b}	±	2,5	4,4 ^a	±	3,0	3,0 ^{a,b}	±	2,2	2,1 ^b	±	1,2
Tłustość	1,7 ^c	±	1,4	6,3 ^a	±	2,6	4,1 ^b	±	2,0	4,2 ^b	±	1,6
Jakość ogólna	2,6 ^b	±	1,9	5,4 ^a	±	2,7	6,0 ^a	±	1,9	4,8 ^a	±	2,3

a, b, c – średnie oznaczone różnymi literami różnią się statystycznie istotnie między kolumnami ($p < 0,05$)

Źródło: Opracowanie własne na podstawie przeprowadzonych badań.

W celu lepszego zobrazowania, otrzymane wyniki ocen sensorycznych przedstawiono na rysunku 2.

Rysunek 2. Wyniki ocen sensorycznych pączków



Źródło: Opracowanie własne na podstawie przeprowadzonych badań.

Na podstawie wyników badań można ocenić, iż zawartość suchej masy we wszystkich badanych pączkach, była na podobnym poziomie. Dla pączka zakupionego w dyskoncie wyniosła 81,0%, cukierni lokalnej – 80,9%, cukierni sieciowej i pączkarni – 78,7%. Zawartość tłuszczu w 100 g produktu była najwyższa w pączkach pochodzących z cukierni lokalnej (26,0 g/100 g). Istotnie niższą zawartością tłuszczu charakteryzowały się pączki z pączkarni (21,2 g/100 g). Najmniej tłuszczu zawierały pączki z dyskontu (16,9 g/100 g) i z cukierni sieciowej (16,5 g/100 g). Należy zaznaczyć, iż masa pączka z pączkarni wynosi średnio 130,2 g i jest znacznie wyższa od pozostałych pączków, których masa wynosiła średnio: 86,2 g (dyskont), 85,9 g (cukiernia lokalna), 79,4 g (cukiernia sieciowa). Wyniki z oznaczeń zawartości tłuszczu, suchej masy oraz masy pączków zaprezentowano w tabeli 3.

Tabela 3. Zawartość tłuszczu, suchej masy oraz masy badanych pączków

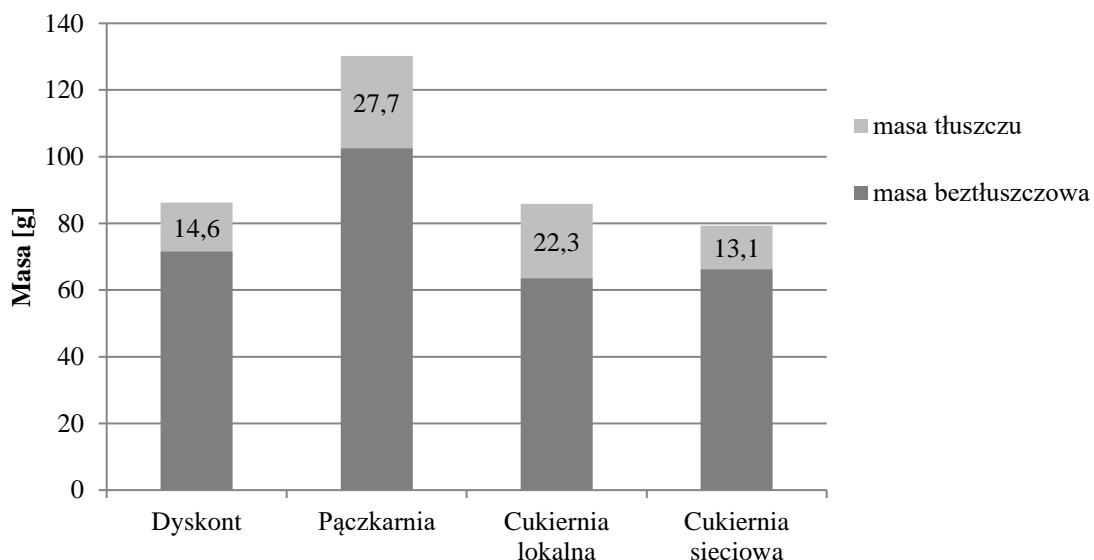
	Dyskont			Pączkarnia			Cukiernia lokalna			Cukiernia sieciowa		
Sucha masa [%]	81,0 ^a	±	2,2	78,7 ^a	±	2,1	80,9 ^a	±	1,3	78,7 ^a	±	1,4
Tłuszcz [g/100g]	16,9 ^c	±	0,1	21,2 ^b	±	0,5	26,0 ^a	±	0,2	16,5 ^c	±	0,2
Masa [g]	86,2 ^b	±	1,2	130,2 ^a	±	7,4	85,9 ^b	±	2,9	79,4 ^b	±	1,1

a, b, c – średnie oznaczone różnymi literami różnią się statystycznie istotnie między wierszami ($p < 0,05$)

Źródło: Opracowanie własne na podstawie przeprowadzonych badań

Na podstawie otrzymanych wyników, można stwierdzić, że średnia zawartość tłuszczu w pączku z dyskontu wynosiła 14,6 g, wyrobu z pączkarni 27,7 g, cukierni lokalnej 22,3 g, natomiast zawartość tłuszczu w pączku z cukierni sieciowej wynosiła 13,1 g. Udział tłuszczu w masie pączka przedstawia rysunek 3.

Rysunek 3. Zawartość tłuszczu w całkowitej masie pączka



Źródło: Opracowanie własne na podstawie wyników badań.

Dyskusja

Badane pączki charakteryzowały się zróżnicowanym profilem sensorycznym, zróżnicowaną zawartością tłuszczu oraz masą. Wyróżnikiem, które je różnicuje jest sucha masa, która we wszystkich próbkach była na zbliżonym poziomie.

Oznaczone zawartości tłuszczu kształtowały się na poziomie 16,5-26,0 g na 100 g pączka, co zbliżone jest do wyników innych autorów (tabela 4). Kosewski i współautorzy (2016) oznaczyli zawartość tłuszczu w 2 różnych pączkach na poziomie 15 g i 23 g. Podobnie w badaniach własnych stwierdzono zróżnicowanie w zawartości tłuszczu.

Tabela 4. Wartość odżywcza pączka (100 g)

Wartość energetyczna	417 kcal
Węglowodany ogółem	62,1 g
Tłuszcz	15,5 g
Białko	7,6 g
Cholesterol	145 mg

Źródło: Opracowanie własne na podstawie Kunachowicz in. 2018.

W związku z wysoką zawartością tłuszczu, pączki są uznawane za wyroby wysokokaloryczne, ale jednocześnie charakteryzują się bogatym smakiem i aromatem. Oceniane pączki pochodzące z paczkarni, cukierni lokalnej i sieciowej mały dobrze wyczuwalny zapach i smak słodki. Jednocześnie te trzy próbki charakteryzowały się wysoką elastycznością ciasta. Zupełnie odmienne cechy organoleptyczne wykazał pączek z dyskontu, którego zapach i smak słodki był mniej wyczuwalny, a ciasto mniej elastyczne. Jednocześnie jakość ogólna pączków z dyskontu została oceniona najniżej. Może to wynikać z faktu, iż cukiernie są bardziej skoncentrowane na wypiekach i ich sprzedaży niż dyskonty, mające w swej ofercie szeroki asortyment, nie tylko spożywczy. Istotny wpływ ma z pewnością również fakt, że pączki te są mrożone po usmażeniu i na bieżąco rozmrażane przed wyłożeniem na sklepowe półki. Cena klasycznego pączka z dyskontu to około 98 gr, a w czasie promocji nawet 38 gr. Jest to najtańszy produkt spośród badanych. Cena pozostałych pączków użytych w badaniu wahała się między 1,99 – 3,99 zł za sztukę. Cena produktu mogła mieć wpływ na jakość składników użytych do wypieku. w przypadku pączka z dyskontu, należy pamiętać, że jego skład różni się od tych, wypiekanych na bieżąco. Długa lista składników, m.in.: dodawane konserwanty, stabilizatory i inne substancje, nie przypomina niczym przepisu tradycyjnego pączka. Wszystko to przekłada się na niską ocenę jakości ogólnej pączka z dyskontu.

Na podstawie przeprowadzonych badań można zauważyć, że faktyczna zawartość tłuszczu, nie przekłada się na jego wyczuwalność. Można zauważyć, że pączek, w którym panel najintensywniej wyczuwał tłustość, pochodził z paczkarni, natomiast według badań fizykochemicznych zawierał on mniej tłuszczu, aniżeli pączek pochodzący z cukierni lokalnej. Zatem, co spowodowało, iż konsument wyczuwał w tym produkcie intensywniej smak tłusty, mimo jego umiarkowanej zawartości? Możliwe że pączki z paczkarni zawierają więcej dodatków lub jeden dominujący dodatek smakowy. Może dowodzić tego odbiegająca od innych barwa ciasta, a także bardziej wyczuwalny smak i zapach obcy, aniżeli w pozostałych pączkach. Koncentrując się na cukierni lokalnej i sieciowej, można zauważyć, iż wyczuwalność tłuszczu nie różniła się istotnie, jednak jego faktyczna ilość jest znacznie różna (ok. 10 g/100 g). Można domniemywać, że również cukiernia lokalna użyła w swoich wypiekach jakiegoś dodatku, który zamaskował wyczuwalność tłuszczu. Analizując barwę skórki można przyjąć, że im ciemniejsza barwa, tym temperatura smażenia była wyższa, bądź pączek był smażony dłużej. W tym przypadku, istnieje prawdopodobieństwo, iż pączki z cukierni lokalnej, były smażone dłużej, dlatego pobrały większą ilość tłuszczu. Ciemna barwa skórki u wyrobów

z pączkarni, mogła być także spowodowana dodatkiem, który zmienił barwę ciasta, przyciemniając je.

Zbadano również korelacje pomiędzy składowymi profilu sensorycznego i zawartością tłuszczu w pączkach a intensywnością tłustości i jakością ogólną oraz zawartością tłuszczu. Współczynniki korelacji zebrano w tabeli 5 i 6.

Tabela 5. Współczynniki korelacji między intensywnością cech organoleptycznych badanych pączków

	Tłustość	Jakość ogólna
Barwa skórki	0,728	0,971
Barwa ciasta	0,887	0,492
Elastyczność ciasta	0,989	0,825
Zapach słodki ciasta	0,860	0,908
Zapach obcy ciasta	0,617	-0,008
Smak słodki ciasta	0,764	0,872
Smak obcy ciasta	0,362	-0,032
Tłustość	1,000	0,782

Źródło: Opracowanie własne na podstawie wyników badań.

Z obliczonych współczynników korelacji Pearsona (tabela 5) wynika, że istnieje silny związek pomiędzy intensywnością tłustości a elastycznością ciasta ($r=0,989$). Nieco mniejszą siłą korelacji stwierdzono między tłustością a intensywnością barwy skórki i ciasta, zapachu i smaku słodkiego ciasta.

Tabela 6. Współczynniki korelacji pomiędzy zawartością tłuszczu a intensywnością cech organoleptycznych

	Zawartość tłuszczu /100 g pączków	Zawartość tłuszczu w przeliczeniu na 1 pączka
Barwa skórki	0,878	0,733
Barwa ciasta	0,305	0,873
Elastyczność ciasta	0,373	0,679
Zapach słodki ciasta	0,804	0,894
Zapach obcy ciasta	-0,344	0,408
Smak słodki ciasta	0,336	0,297
Smak obcy ciasta	0,238	0,759
Tłustość	0,389	0,761
Jakość ogólna	0,748	0,623

Źródło: Opracowanie własne na podstawie wyników badań.

Wykryto też bardzo silny związek pomiędzy jakością ogólną a barwą skórki ($r=0,971$) oraz słodkim zapachem ciasta ($r=0,908$). Silny związek istnieje również pomiędzy elastycznością ciasta ($r=0,825$), smakiem słodkim ciasta ($r=0,872$) oraz tłustością ($r=0,782$) wobec jakości ogólnej. Ponadto istnieje silny związek pomiędzy zawartością tłuszczu zarówno w 100g pączka i w pączku a barwą skórki ($r=0,878$ i $r=0,733$) i zapachem słodkim ciasta ($r=0,804$ i $r=0,894$). Wykryto również silny związek pomiędzy zawartością tłuszczu w pączku a barwą ciasta ($r=0,873$), jego smakiem obcym ($r=0,759$) i tłustością ($r=0,761$). Co ciekawe, nie zaobserwowano silnej korelacji pomiędzy wyczuwalnością tłustości a zawartością tłuszczu w 100 g pączków, ale biorąc pod uwagę zawartość tłuszczu w jednym pączku, korelacja była obserwowana ($r=0,761$) (tabela 6).

Podsumowanie

Na podstawie przeprowadzonych badań można wnioskować o istotnym zróżnicowaniu pączków pod względem profilu sensorycznego i zawartości tłuszczu. Stwierdzono, że zawartość tłuszczu w pączku, nie ma istotnego wpływu na wyczuwalną intensywność tłustości. Najwyższą zawartość tłuszczu miały pączki pochodzące z cukierni lokalnej. Z kolei, według panelu sensorycznego, najwyższa tłustość była wyczuwalna w pączkach z pączkarni. Tak więc nie zawsze wysoka wyczuwalność tłuszczu jest adekwatna do rzeczywistej jej zawartości.

Badania wskazały na silnie dodatnią korelację między zawartością tłuszczu a jakością ogólną pączków. Wyżej zostały ocenione pączki zawierające więcej tłuszczu.

Literatura

- Ambroziak Z. 1999, *Produkcja piekarsko-ciastkarska cz.2. Podręcznik dla techniku*, WSiP, Warszawa.
- Antoniewski P. 2018, *Krótką historią pączków*, <https://kurierhistoryczny.pl/artykul/krotka-historia-paczkow,254> (dostęp 6 lutego 2019 r.).
- Kosewski G., Bolesławska I. i Przysławski J. 2016. *Profil kwasów tłuszczowych, w tym izomerów trans w wybranych wyborach cukierniczych, waflach i ciastkach*, *Bromat. Chem. Toksykol.*, XLIX, 016, 3: 313 – 318.
- Dłużewski M., 2001a, *Technologia żywności 2 Podręcznik dla technikum*, WSiP, Warszawa.
- Dłużewski M., 2001b, *Technologia żywności 4 Podręcznik dla technikum*, WSiP, Warszawa.
- Gawęcki J., 2004, Mossor-Pietraszewska T., *Kompendium wiedzy o żywności, żywieniu i zdrowiu*, PWN, Warszawa.
- Kołożyn-Krajewska D., Sikora T., 2004, *Towaroznawstwo żywności*, WSiP, Warszawa.

- Kunachowicz H., Nadolna I., Iwanow K., Przygoda B. 2018. *Wartość odżywcza wybranych produktów spożywczych i typowych potraw, wydanie VI*, Wydawnictwo Lekarskie PZWL, Warszawa.
- Matuszewska I., Misiak P. 2018. *Ocena preferencji poznańskich konsumentów w zakresie paczków*, Młodzi Towaroznawcy: 95-98
- portalspozywczy.pl <http://www.portalspozywczy.pl/slodycze-przekaski/wiadomosci/polacy-to-paczkozercy-w-tlusty-czwartek-kazdy-zje-srednio-4-6-paczka,124924.html> (dostęp 2 marca 2019 r. a).
- portalspozywczy.pl. http://www.portalspozywczy.pl/owoce-warzywa/wiadomosci/mintel-ujawnia-6-trendow-ktore-beda-krolowac-na-rynku-zywnosci-w-2018-roku,154016_1.html (dostęp 2 marca 2019 r. b).
- Sayon-Orea C., Bes-Rastrollo M., Basterra-Gortari FJ., Beunza JJ., Guallar-Castillon P., de la Fuente-Arrillaga C., Martinez-Gonzalez MA. 2013. *Consumption of fried foods and weight gain in a Mediterranean cohort: The SUN Project*, Nutr. Metab. Cardiovas. 23, 2: 144-150.

Jadalne grzyby dziko rosnące - preferencje konsumenckie studentów

Wild edible mushrooms - students' consumer preferences

Karina Zywar
Bartłomiej Bielawa
Kornelia Biniek

Państwowa Wyższa Szkoła Zawodowa im. Stanisława Pigonia w Krośnie
Instytut Zdrowia i Gospodarki
Studenckie Koło Naukowe Produkcji i Bezpieczeństwa Żywności
Sekcja Produkcja Roślinna
Opiekun: dr inż. Barbara Krochmal Marczak, dr inż. Marta Pisarek

Abstract

The aim of the study was to test students on cap mushrooms obtained from natural sites. The results were obtained in 2018 among 150 respondents of the Institute of Health and Economy of the State Higher Vocational School in Krosno. The study was conducted with the use of a questionnaire concerning dietary preferences related to edible mushrooms and the diagnosis of poisonous fungi.

Only a small percentage of respondents do not collect and do not eat fungi. Most of the students participating in the study were able to name more than 3 species of fungi. Among the most frequently harvested mushrooms, the noble boletus took the leading place. Students do not prefer to buy mushrooms.

Respondents mainly eat mushrooms as an independent meal. The analysis of answers shows that a large percentage of students are unable to recognize the symptoms of fungal toxin poisoning.

Keywords: edible fungi, poisonous mushrooms, recognition, premedical aid

Wstęp

Grzyby stanowią najliczniejszą grupę organizmów żywych na ziemi (Siwulski i Sobieralski 2004). Według Kirka i in. (1999), do królestwa grzybów zaliczanych jest około 14000 gatunków grzybów wielkoowocnikowych, zaś w opinii Chang (2008), co najmniej 2000 z nich jest gatunkami jadalnymi. Grzyby istnieją praktycznie we wszystkich kulturach świata. Zdaniem Łuszczynskiego (2012) były one środkiem stosowanym głównie w obrzędach rytualnych i religijnych, do łączenia się ze światem bogów. W dzisiejszych czasach cenione są głównie za smak i aromat oraz ich właściwości medyczne. Istnieje jednak wiele gatunków, które są trujące i wtedy stają się niebezpieczne dla zdrowia i życia człowieka. W wielu ośrodkach naukowych prowadzono badania, dotyczące właściwości prozdrowotnych zarówno uprawnych, jak i dzikich gatunków grzybów (Ganeshpurkar i in. 2010). Wyniki badań

wykazały, że grzyby mają istotne działanie przeciwnowotworowe, immunostymulujące oraz przeciwbakteryjne i przeciwwirusowe (Rathees i Kumar 2012). Według Wassera (2002), istnieje około 650 gatunków grzybów wyższych, wykazujących potencjał przeciwnowotworowy. W składzie chemicznym bocznika, borowika, pieczarki a także podgrzybka i grzybków Shitake czy Hiratake, stwierdzono obecność betaglukanu. Jest to substancja bioaktywna, o silnych właściwościach przeciwutleniających, pobudzająca pracę układu immunologicznego. Zwiększa ona również produkcję białych ciałek krwi w szpiku kostnym i neutralizuje wolne rodniki, które są jedną z przyczyn powstawania nowotworów (Satora i in. 2006). Co więcej, niektórzy naukowcy twierdzą, że zawarta w boczniku substancja aktywna – pleuran, może zmniejszać guzy nowotworowe, natomiast przeciwutleniacz – ergotioneina, opóźnia procesy starzenia komórek oraz chroni je przed uszkodzeniem (<https://zwierciadlo.pl/zdrowie/diety/grzyby-sluza-zdrowiu>).

O wartości odżywczej poszczególnych gatunków grzybów decyduje ich skład chemiczny (Sas-Golak i in. 2011). Wartość energetyczna grzybów jest niska, około 60 kcal w 100g, ponieważ charakteryzują się one wysoką zawartością wody. Zawartość suchej masy waha się od 10,2% u maślaka, zaś u koźlarza wynosi do 13,4% (Rajewska i Bałasińska 2004). Zdaniem Sas-Golak i in. (2011) grzyby są dobrym źródłem składników mineralnych. Zawierają duże ilości takich pierwiastków jak: potas i fosfor oraz niewiele mniejsze sodu, wapnia oraz magnezu. Grzyby zaraz po zebraniu osiągają najwyższą wartość odżywczą, dlatego powinno się je spożywać w jak najkrótszym czasie. Zdaniem Panasiuk i in. (2010) podczas przechowywania, następuje obniżenie wartości odżywczej, zachodzą też niekorzystne zmiany organoleptyczne.

Cel i metoda badawcza

Celem badań pracy było sprawdzenie wiedzy respondentów na temat grzybów kapeluszowych, pozyskiwanych ze stanowisk naturalnych. Narzędziem były kwestionariusze badań ankietowych przeprowadzonych wśród 150 studentów Państwowej Wyższej Szkoły Zawodowej im. Stanisława Pigoń w Krośnie. Ankieta badaniem objęła studentów Instytutu Zdrowia i Gospodarki z kierunków: Pielęgniarstwo, Produkcja i Bezpieczeństwo Żywności, Rolnictwo, Towaroznawstwo oraz Ziellarstwo, z czego 58 osób (38,7%) to mężczyźni, a 92 (61,3%) – kobiety.

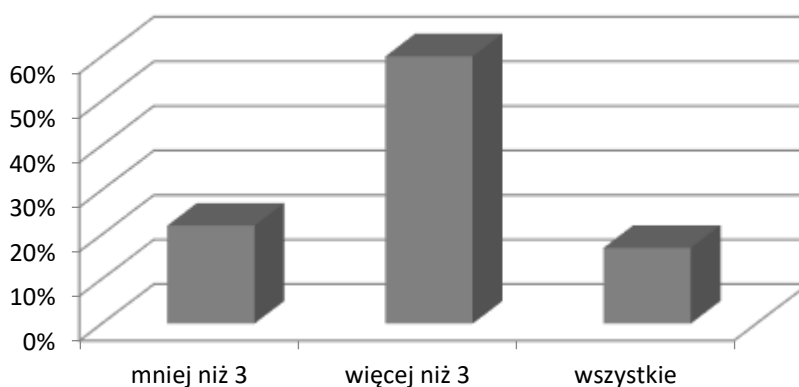
W ankiecie zawarto pytania dotyczące miejsca pozyskiwania grzybów ze środowiska naturalnego, częstotliwości ich spożywania, odróżniania gatunków jadalnych od trujących

i ogólnej wiedzy dotyczącej zatruc, zasad udzielania pierwszej pomocy, korzystania z usług Państwowej Inspekcji Sanitarnej w celu weryfikacji gatunków grzybów pozyskiwanych ze stanowisk naturalnych.

Wyniki badań

Najwięcej osób, które brały udział w badaniu odpowiedziało, że potrafi wymienić więcej niż 3 gatunki grzybów jadalnych rosnących na stanowiskach naturalnych (aż 61,33% wśród wszystkich badanych). Mały odsetek, bo tylko 16,67% odpowiedziało, że potrafi wymienić wszystkie gatunki (Rys. 1).

Rysunek 1. Ile potrafisz wymienić nazw gatunków grzybów jadalnych rosnących na stanowiskach naturalnych?

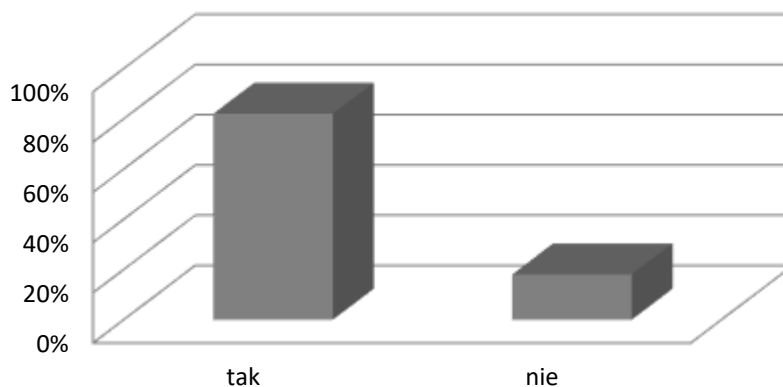


Źródło: Opracowanie własne.

Respondenci w większości zaznaczyli odpowiedź, że zbierają grzyby rosnące na stanowiskach naturalnych (82%). Niewielki odsetek osób, które brały udział w ankiecie zaznaczyło odpowiedź, że nie spożywa takich grzybów (18%) (rysunek 2). W wynikach badań prezentowanych przez Ciecierską i in. (2014), prawie wszyscy respondenci zadeklarowali spożycie grzybów (93,5%).

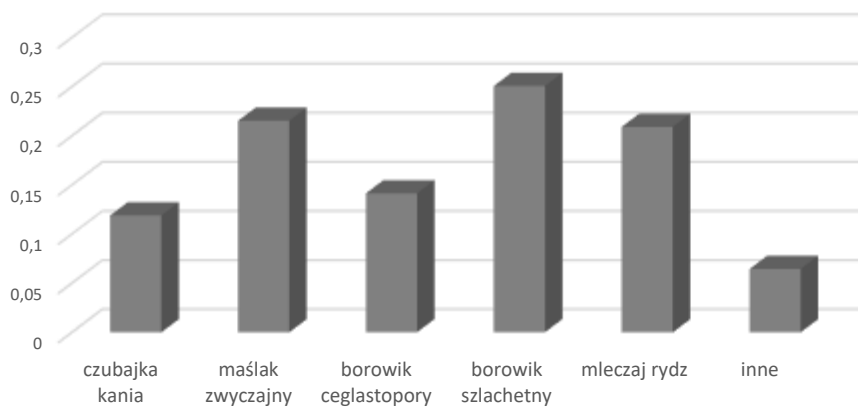
Wśród zbieranych grzybów gatunkami najchętniej pozyskiwanymi okazały się borowik szlachetny (24%), maślak zwyczajny (23%) oraz mleczaj rydz (21%). Mniejszym zainteresowaniem cieszyły się czubajka kania (13,56%) i borowik ceglstopory (12%) (Rys 3).

Rysunek 2. Czy spożywasz grzyby rosące na stanowiskach naturalnych?



Źródło: Opracowanie własne.

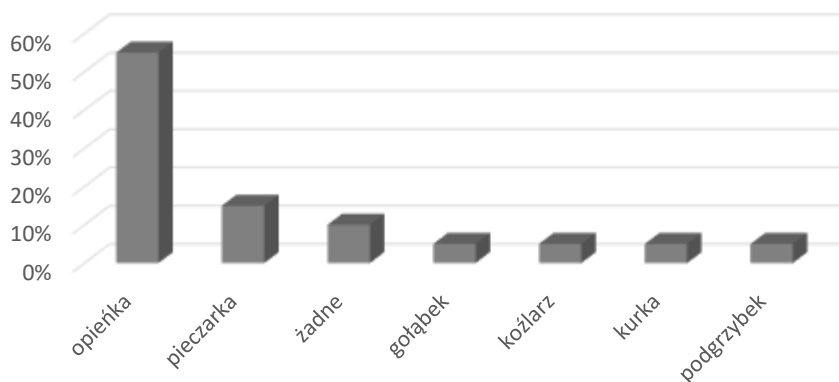
Rysunek 3. Które gatunki grzybów pozyskane ze stanowiska naturalnego spożywasz najczęściej?



Źródło: Opracowanie własne.

Wśród rzadziej zbieranych grzybów, największym zainteresowaniem cieszyły się opieńki (52%) (Rys. 4).

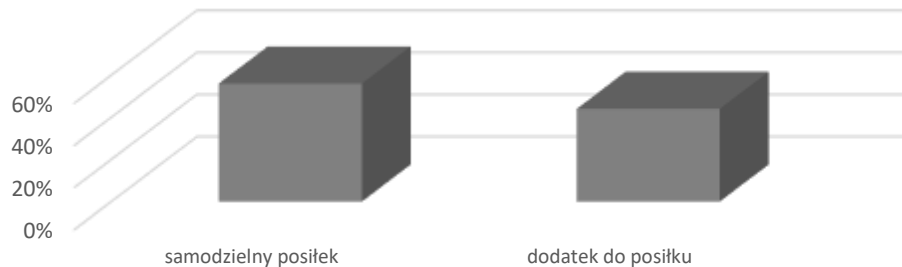
Rysunek 4. Które gatunki grzybów pozyskane ze stanowiska naturalnego spożywasz najczęściej? – inne odpowiedzi



Źródło: Opracowanie własne.

Jak wynika z danych na rysunku 5, respondenci przede wszystkim spożywali grzyby jako samodzielny posiłek, ale równie często dodawali je do innych potraw.

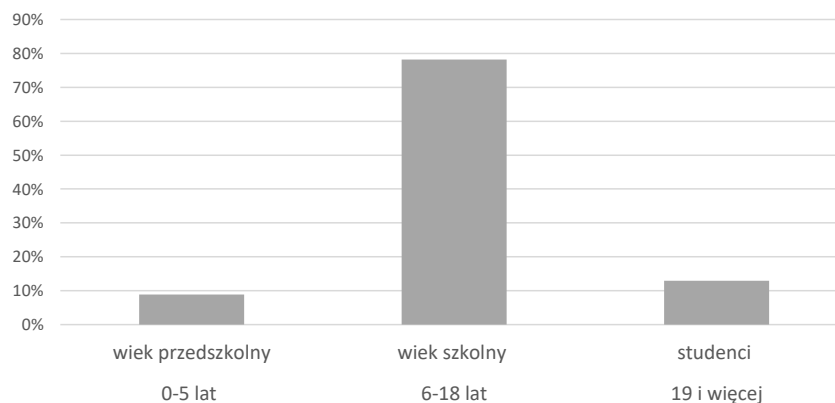
Rysunek 5. Jeżeli spożywasz grzyby pozyskane ze stanowisk naturalnych, to najczęściej



Źródło: Opracowanie własne.

Na pytanie, od którego roku życia zbierasz grzyby ze stanowisk naturalnych odpowiedziały 124 osoby na 150 osób objętych ankietą badawczą. Najwięcej osób zaczęło zbierać grzyby w wieku szkolnym (rysunek 6). W wynikach ankiety Chwaluka (2015), ankietowani najczęściej rozpoczynali zbieranie grzybów w wieku 15 lat. Wyniki ankiet uzyskane w przeprowadzonych badaniach są zbliżone do wyników prezentowanych przez innych autorów.

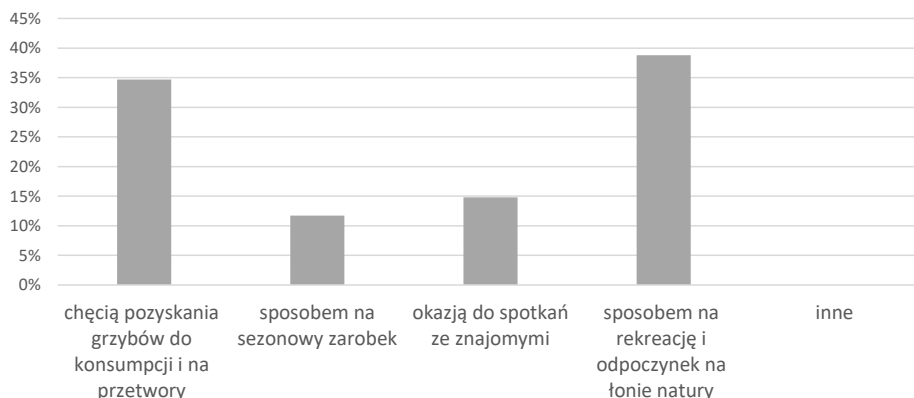
Rysunek 6. Od którego roku życia zbierasz grzyby ze stanowisk naturalnych?



Źródło: Opracowanie własne.

Dla większości respondentów, grzybobranie jest chęcią pozyskania grzybów do konsumpcji i na przetwory oraz sposobem na rekreację i odpoczynek na łonie natury. Żadna osoba nie zaznaczyła odpowiedzi „inne” (Rys. 7).

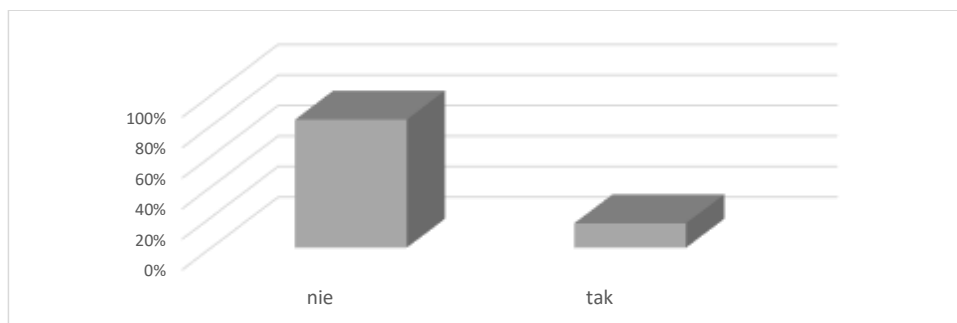
Rysunek 7. Czym dla Ciebie jest grzybobranie?



Źródło: Opracowanie własne.

Większość osób, tj. 84% odpowiedziało, że nie kupuje grzybów rosnących na stanowiskach naturalnych. Tylko 16% (24 osoby) badanych odpowiedziało, że kupuje (Rys. 8).

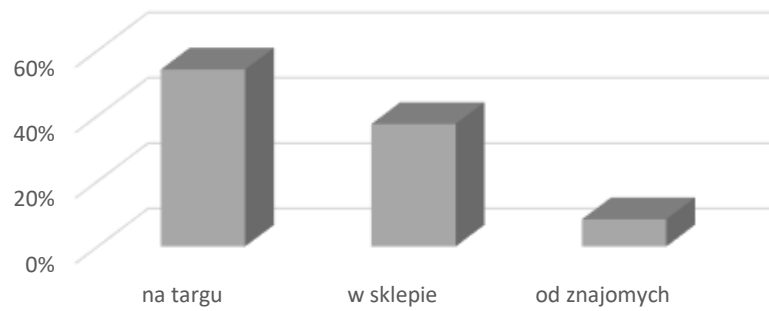
Rysunek 8. Czy kupujesz grzyby rosnące na stanowiskach naturalnych?



Źródło: Opracowanie własne.

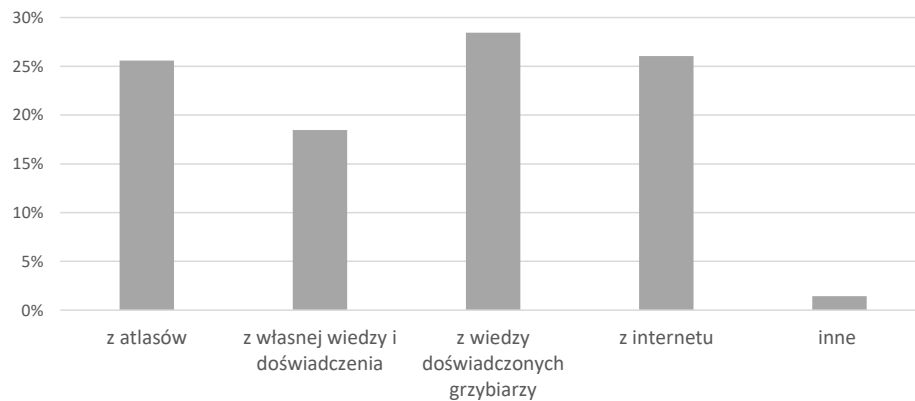
Osoby kupowały grzyby na targowisku (58%), następnie w sklepie (36%), a najrzadziej od znajomych (6%) (Rys. 9). Najwięcej osób czerpie informację o grzybach z wiedzy doświadczonych grzybiarzy. Mniej więcej równy odsetek badanych taką wiedzę zdobywa z atlasów i stron internetowych. Niektórzy wiedzę o grzybach czerpią od rodziny (Rys. 10). Większość respondentów (78,67%) nie korzysta z usług Sanepidu w weryfikacji gatunku grzybów pozyskiwanych ze stanowisk naturalnych (Rys. 11).

Rysunek 9. Miejsca, w których respondenci kupują grzyby



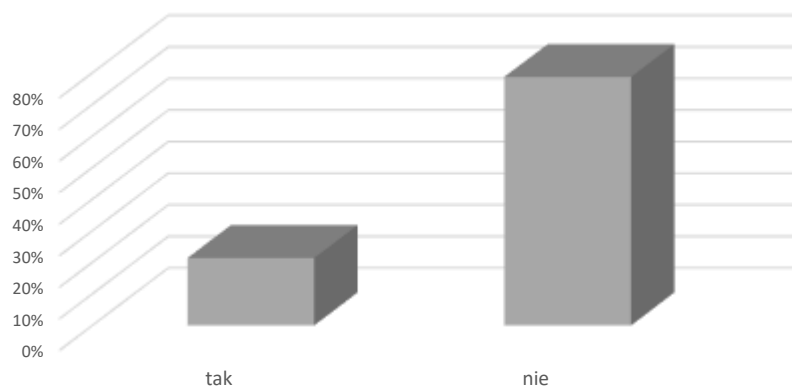
Źródło: Opracowanie własne.

Rysunek 10. Skąd czerpiesz informację o grzybach?



Źródło: Opracowanie własne.

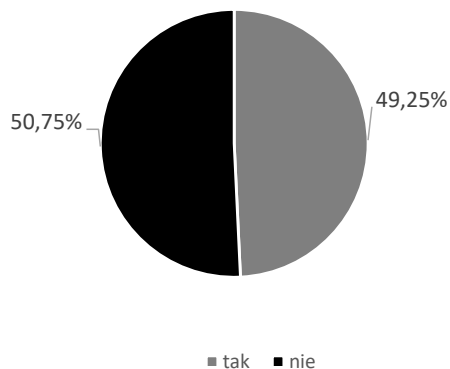
Rysunek 11. Czy korzystasz z usług Sanepidu w weryfikacji gatunku grzybów pozyskanych ze stanowisk naturalnych?



Źródło: Opracowanie własne.

Jak wynika z danych zamieszczonych na rysunku 12, prawie tyle samo studentów potrafi rozpoznać i wymienić najbardziej popularne gatunki grzybów trujących, które rosną na stanowiskach naturalnych, jak i nie ma w tym zakresie umiejętności.

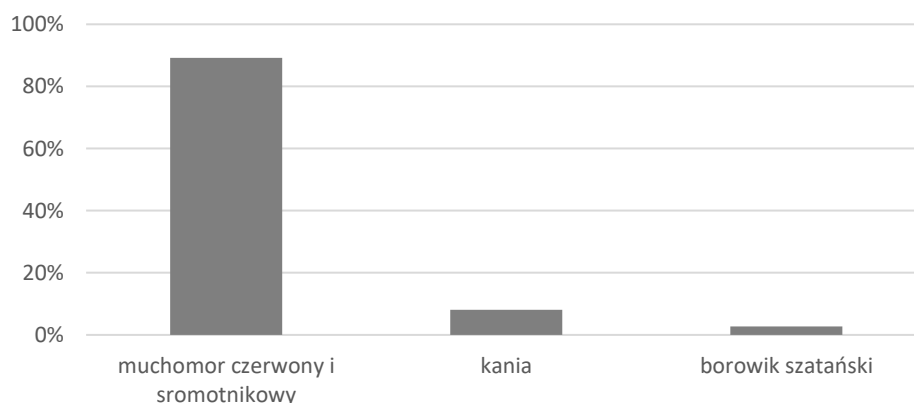
Rysunek 12. Czy potrafisz rozpoznać gatunki trujące grzybów rosnące na stanowiskach naturalnych?



Źródło: Opracowanie własne.

Respondenci musieli również wymienić, jakie znają trujące gatunki grzybów. Najczęstszą odpowiedzią był muchomor czerwony i sromotnikowy (89%), na drugim miejscu znalazła się kania (9%) natomiast na ostatnim miejscu ulokował się borowik szatański, który uzyskał tylko 2% (Rys. 13).

Rysunek 13. Znane respondentom trujące gatunki grzybów



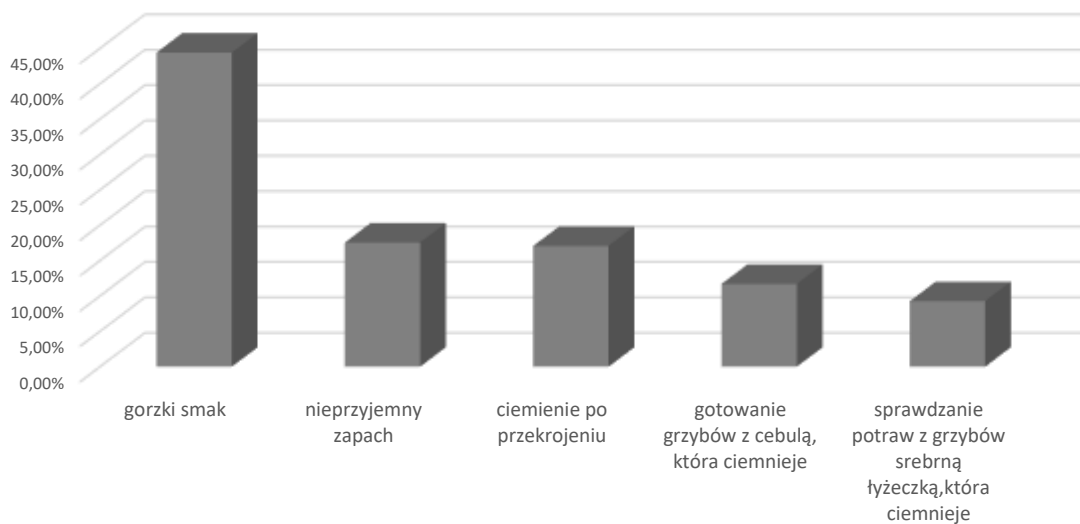
Źródło: Opracowanie własne.

Najwięcej respondentów biorących udział w kwestionariuszu ankietowym stwierdziło, że grzyby jadalne od trujących można odróżnić poprzez gorzki smak (42%), a następnie nieprzyjemny zapach (20%) oraz ciemnienie po przekrojeniu (19%). Najmniej procent

uzyskały sposoby odróżniania - gotowanie grzybów z cebulą, która ciemnieje (12%) i sprawdzanie potraw z grzybów srebrną łyżeczką, która ciemnieje (7%) (rysunek 14). U Chwałuka (2015) 43% odpowiedzi wskazuje na możliwość identyfikacji grzyba trującego poprzez próbę smaku. Nieprzyjemny, gorzki smak ma świadczyć o nieprzydatności grzyba do spożycia. Inne przywoływane sposoby odróżniania grzybów trujących od jadalnych to m.in. ocena zapachu, zmiany koloru po potarciu lub przekrojeniu grzyba, stwierdzenie obecności pierścienia na trzonie i jego ruchomości.

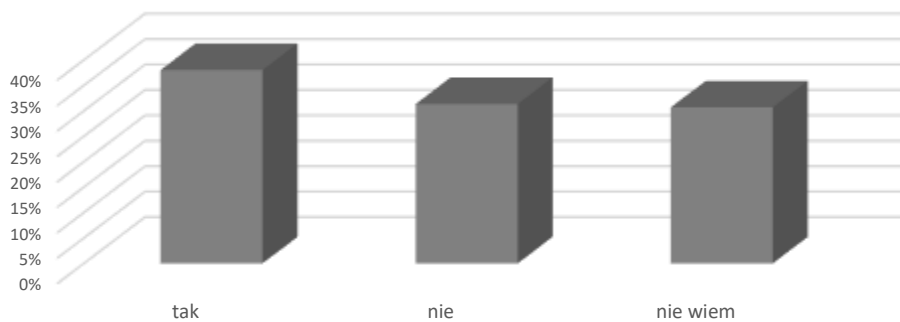
Odpowiedzi respondentów dotyczące rozpoznawania objawów zatrucia grzybami rozkładały się równomiernie (rysunek 15) i są zbliżone z badaniami Ciecierskiej i in. (2014).

Rysunek 14. Co odróżnia grzyby jadalne od trujących?



Źródło: Opracowanie własne.

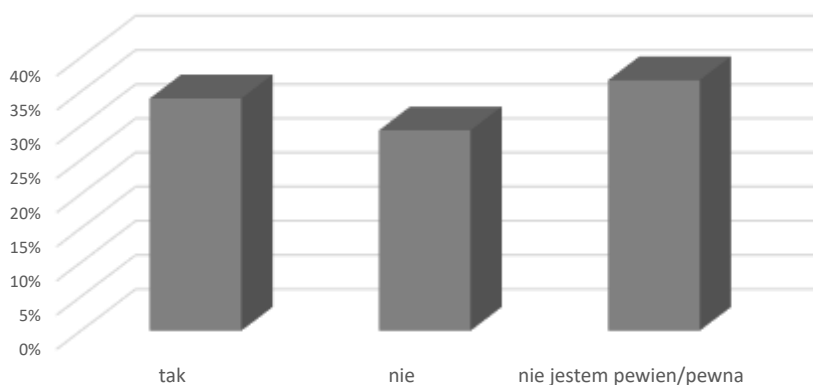
Rysunek 15. Czy jesteś w stanie rozpoznać objawy zatrucia toksynami grzybowymi?



Źródło: Opracowanie własne.

Ze wszystkich osób, które wzięły udział w ankiecie 34 % badanych jest pewnych, że zna zasady udzielania pierwszej pomocy, natomiast 36,67% osób zaznaczyło odpowiedź nie jestem pewna/pewny. Pozostali odpowiedzieli, że nie znają tych zasad (Rys. 16).

Rysunek 16. Czy znasz zasady udzielania pierwszej pomocy przy zatruciach grzybami?



Źródło: Opracowanie własne.

Podsumowanie

Na podstawie przeprowadzonych badań ankietowych można stwierdzić, że młodzi ludzie chętnie pozyskują samodzielnie jadalne grzyby ze stanowisk naturalnych i robią to cyklicznie. Nie mniej jednak, ich wiedza dotycząca cech morfologicznych grzybów jadalnych, ogranicza się tylko do niewielkiej liczby gatunków. Ponadto respondenci nie potrafią rozpoznawać objawów zatruc grzybami oraz udzielać pomocy przedmedycznej. Dlatego też warto w ramach przedmiotów obowiązkowych oraz zajęć nieformalnych, poszerzyć i utrwalić wiedzę studentów w tym zakresie.

Literatura

- Chang S.T. 2008. *Global impact of edible and medicinal mushrooms on human welfare in the 21 century, non-green revolution*. Int. J. Med. Mush, 1: 1-7.
- Chwałuk P. 2015. *Zainteresowanie zbieraniem grzybów i wiedza o nich u studentów Akademii Wychowania Fizycznego w Białej Podlaskiej- czy jesteśmy jeszcze mykofilami?* Etnobiologia Polska, 5: 7-14.
- Ciecierska M., Górniak J., Derewiaka D., Drużyńska B., Majewska E., Kowalska J. 2014. *Ocena świadomości konsumenckiej przy spożyciu grzybów i podejmowanego ryzyka zatrucia*. Bromat. Chem. Toksykol., XLVII (3): 342-346.
- Ganeshpurkar A., Rai G., Jain A.P. 2010. *Medicinal Mushrooms, Towards a new horizon*. Pharmacogn. Rev., 4(8): 127-135.

- Kirk P.M., Cannon P.F., David J.G., Stalpers J.A. 1999. *Ainsworth Brisbane dictionary of the fungi, 10th edn.* CAB International, Wallingford.
- Łuszczynski J. 2012. *Przewodnik do ćwiczeń z mikologii.* Wydawnictwo Uniwersytetu Jana Kochanowskiego, Kielce.
- Rajewska J., Bałasińska B. 2004. *Związki biologicznie aktywne zawarte w grzybach jadalnych i ich korzystny wpływ na zdrowie.* Postępy Hig. Med. Dośw., 58: 352-357.
- Rathees. D.D.P., Kumar V. 2012. *Mushrooms as therapeutic agents.* Braz. J. Pharmacog., 22(2): 459-474.
- Sas-Golak I., Sobieralski K., Siwulski M., Lisiecka J. 2011. *Skład, wartość odżywcza oraz właściwości zdrowotne grzybów pozyskiwanych ze stanowisk naturalnych.* Kosmos, 60: 483-490.
- Satora L., Pach D., Ciszowski K., Winnik L. 2006. *Panther cap Amanita pantherinapoisoning case report and review.* Toxican, 47: 605-607.
- Siwulski M., Sobieralski K. 2004. *Uprawa grzybów jadalnych i leczniczych w warunkach naturalnych.* KURPISZ, Warszawa.
- Wasser S.P. 2002. *Medicinal mushrooms as a source of antitumor and immune modulating polysaccharides.* Appl. Microbiol. Biotechnol, 3: 258-274.

Rozdział II

Rynkowe aspekty bezpieczeństwa żywności w Polsce

Porównanie jakości przekąsek warzywnych Comparison of the quality of vegetable snacks

Agnieszka Małgorzata Bąkowska
Elżbieta Nijaka
Agnieszka Strażyńska

Uniwersytet Ekonomiczny w Poznaniu
Wydział Towaroznawstwa
Studenckie Koło Naukowe Towaroznawstwa Żywności Spectrum
Opiekun: dr inż. Maria Sielicka

Abstract

The aim of the research was to compare the quality of vegetable snacks prepared in the fat and fat-free deep fryer. The following vegetables were studied: potato, carrot and sweet potato. The total fat content was determined during the study with the use of Velp extraction apparatus and water content was assessed. Additionally, a consumer evaluation of the prepared products was carried out among 44 young consumers.

On the basis of the results of the study, the differences in fat and water content in the prepared snacks were found, which were caused by the kind of deep fryers used. The consumer assessment noted differences in preferences depending on the preparation methods and type of vegetables for some sensory attributes. The snack from sweet potato baked in fat-free deep fryer was the most liked by the consumers.

Keywords: fat, vegetables, snack

Wstęp

Coraz częściej obserwuje się zainteresowanie zdrowym odżywianiem i aktywnym trybem życia. Wzrasta świadomość konsumentów, która przejawia się w dokładnym czytaniu etykiet, wybieraniem produktów jak najmniej przetworzonych, cechujących się dobrą jakością. Konsumenty częściej wybierają produkty o krótkim składzie, co może świadczyć o mniejszej ilości dodatków w danym produkcie. Niestety, niepokojące zdają się być dane o spożyciu wybranych kategorii produktów. Na podstawie informacji Głównego Urzędu Statystycznego (<https://stat.gov.pl>), przeciętne miesięczne spożycie warzyw na osobę w roku 2016, wynosiło 8,59 kg, w 2015 roku 8,68 kg, a w 2010 roku wynosiło 9,95 kg. Powyższe dane bez wątpienia pozwalają wywnioskować, że następuje spadek spożywania warzyw w Polsce. Z tego względu, pojawiające się na rynku przekąski warzywne, mają za zadanie zachęcić konsumentów do częstszego sięgania po warzywa, w celu zwiększenia ich ilości w codziennej diecie. Dostępne na rynku przekąski warzywne, są zdecydowanie lepszym zamiennikiem niezdrowych przekąsek, takich jak chipsy lub paluszki. Jedynym ograniczeniem jest dość wysoka cena

produktów, która zniechęca do zakupu. Konsumenci wolą sięgać po produkty mniej zdrowe ale za to są tańsze. Z raportu Mintela (portal spożywczy 2019) wynika, że o wyborze przekąski warzywnej, decyduje przede wszystkim smak oraz cena. Co trzecia osoba sugeruje się ofertą promocyjną. Dodatkowym czynnikiem wyboru jest przywiązanie do marki.

Aby uniknąć dylematu podczas zakupu, można zdecydować się na samodzielne przygotowanie takich przekąsek w domu. Dodatkową zachętą może być dostępność różnych przepisów w czasopiśmie i w Internecie oraz popularyzacja tego typu przekąsek w Social Media przez znane osoby. Producenci sprzętu kuchennego wychodzą naprzeciw konsumentów, wprowadzając do oferty coraz to nowsze urządzenia. Jednym z nich jest frytkownica beztłuszczowa, która pomaga przygotować dania z minimalnym dodatkiem tłuszczu, co pozwala otrzymać mniej kaloryczne produkty. Oprócz tradycyjnych frytek, można przyrządzić z jej użyciem mięso lub inne kreatywne dania. Obsługa tego sprzętu nie wymaga specjalnych umiejętności. Działanie frytkownicy jest podobne do piekarnika konwekcyjnego. Jej działanie polega na pieczeniu warzyw w gorącym powietrzu, w przeciwieństwie do frytkownicy tłuszczowej, gdzie frytki są zanurzone w wysokokalorycznym oleju. Dzięki temu przekąski mają mniej kalorii oraz charakteryzują się ciekawymi cechami organoleptycznymi – są chrupkie na zewnątrz a miękkie w środku. Przy zakupie frytkownicy beztłuszczowej, konsumenci zwracają uwagę na następujące parametry: moc, metodę grzania, programy, pojemność koszyka, zakres temperaturowy. Najbardziej popularnymi modelami są te, których moc wynosi 1200 W. W kwestii metody grzania, najczęściej były wybierane frytkownice halogenowe, ponieważ wykorzystują grzałkę na podczerwień, która rozgrzewa potrawę. Wiele osób, zwłaszcza w okresie zimowym, sięga po dodatkowe suplementy, zapominając o cennych witaminach i składnikach mineralnych, obecnych w warzywach. Ziemniak jest powszechnie spożywanym warzywem w diecie Polaków i jego wielką zaletą jest możliwość kupienia go przez cały rok. Warzywo charakteryzuje się wysoką zawartością kwasu askorbinowego i kwasu dehydroaskorbinowego, który stanowi witaminę C (11-28 mg/100g) oraz niską zawartością tłuszczu (0,10-0,12%). Kartofel zawiera również inne cenne witaminy takie jak B₁, B₂, B₆ (Pijanowski i in. 2004). Kaloryczność tego warzywa kształtuje się na poziomie około 50-90 kcal/100 g, co porównywalne jest z kalorycznością np. jabłek (54 kcal). Podstawowym składnikiem bulw ziemniaka jest skrobia, której zawartość wynosi 11,0-18,3% suchej masy. Podczas obróbki termicznej, np. smażenia, skrobia ulega kleikowaniu i w związku z tym bardzo szybko jest trawiona (Leszczyński 2000). Równie bardzo istotnym składnikiem bulw ziemniaka jest białko, którego wielkość waha się w granicach ok. 2 g/100 g,

a mimo wszystko charakteryzuje się wysoką wartością biologiczną (Zarzecka i in. 2013). Cenny jest również błonnik, który występuje w ilości 2,0-2,5% i wpływa on pozytywnie na perystaltykę jelit. Co ciekawe, wartość żywieniowa ziemniaka zależy od sposobu i czasu przygotowania bulw oraz od grubości skórki.

Tabela 1. Zawartość wybranych składników w ziemniakach

Składnik	Zawartość	Składnik	Zawartość
Skrobia	11,0-18,3%	Żelazo	0,5 mg/ 100 g
Cukry ogółem	0,3-0,6%	Cynk	0,1 mg/100 g
Białko ogółem	1,7-2,3%	Miedź	0,08 mg/100 g
Błonnik pokarmowy	2,0-2,5%	Witamina B ₁	0,12 mg/100 g
Lipidy	0,10-0,12%	Witamina B ₂	0,04 mg/100 g
Związki mineralne (ogółem)	1,0-1,2%	Witamina B ₆	0,3 mg/100 g
Potas	450 mg/100 g	Witamina C	11-28 mg/100 g
Fosfor	60 mg/100 g	Kwas nikotynowy	1,2 mg/100 g
Magnez	22 mg/100 g	Związki fenolowe	15-30 mg/100 g
Wapń	15 mg/100 g	Glikoalkaloidy	1,2-12,9 mg/100 g
Sód	2 mg/100 g	Azotany	10-30 mg/100 g

Źródło: opracowanie własne na podstawie Zarzecka i in. 2013.

Bataty, zwany wilcem ziemniaczanym, zawiera duże ilości węglowodanów, w związku z czym jest słodki i nie bez powodu nazywany jest popularnie słodkim ziemniakiem. Bataty zawierają związki mineralne takie jak: wapń, fosfor, sód, potas, żelazo, magnez, siarka, chlor, jod i wiele innych. Bulwy słodkich ziemniaków zawierają również lipidy, białka, antocyjany, karoteny, witaminy oraz składniki odżywcze. Bulwy batatów zawierają około 27% suchej masy, z czego 22% stanowi skrobia, 2,8% białko i ponad 2% innych węglowodanów. Słodkie ziemniaki zawierają duże ilości witaminy C, około 23 mg/100 g (Krochmal-Marczak i Sawicka 2013). Bataty wykorzystywane są szczególnie jako pokarm dla dzieci oraz dla diabetyków. Ta odmiana ziemniaka, jest rośliną leczniczą o działaniu przeciwzapalnym, przeciwcukrzycowym oraz może być traktowana nawet jako żywność funkcjonalna. Warzywo zawiera wiele substancji odżywczych takich jak: prowitamina A, tiamina, witamina C, witamina B₆, witamina K, niacyna, kwas pantotenowy, α - i β -tokoferol, cholina. Ponadto, jego spożywanie może zapobiegać chorobom oczu np. ślepotie (Krochmal-Marczak i Sawicka 2018).

Z kolei marchew to bogactwo α -karotenu i β -karotenu. Jest to również źródło antyoksydantów (Gajewski 2013). W warzywie tym występują witaminy: A, C, E. Średnia zawartość witaminy C w marchwi, na podstawie danych literaturowych to 1,6-2,5 mg/100 g. Witamina ta pełni ważne funkcje w organizmie, między innymi przyczynia się do absorpcji

żelaza, reguluje mechanizmy antyoksydacyjne oraz hamuje rozwój nowotworów (Domaradzki i in. 2010).

Tabela 2. Zawartość wybranych składników w 100g batatów

Składnik	Zawartość	Składnik	Zawartość
Woda	77,28 g	K	337,00 mg
Energia	86 kcal	Na	55,00 mg
Białko	1,57 g	Witamina C	2,4 mg
Tłuszcz ogółem	0,05 g	Tiamina	0,0078 mg
Włókno strawne	3 g	Witamina A	141987 mg
Popiół	1,86 g	Witamina B ₆	0,209 mg
Cukry	4,18 g	Witamina B ₂	0,061 mg

Źródło: Opracowanie własne na podstawie Krochmal-Marczak i Sawicka 2018.

Cel i metoda

Celem niniejszego projektu była ocena wpływu zastosowywania zróżnicowanej obróbki termicznej na jakość przekąsek warzywnych, przygotowanych we frytkownicy tłuszczowej i beztłuszczowej, a także oznaczenie zawartości tłuszczu w przekąskach warzywnych. Dodatkowo oznaczono zawartość wody w przygotowanych przekąskach warzywnych. Badania obejmowały: przygotowanie przekąsek warzywnych, konsumencka ocena pożądalności przekąsek warzywnych, oznaczenie zawartości tłuszczu i wody w surowej przekasce z ziemniaka, batata i marchwi oraz gotowych próbkach.

Materiałem badawczym były samodzielnie przygotowane przekąski z 3 warzyw: marchwi, batata oraz ziemniaka. Surowce zakupiono w supermarkecie. Warzywa obrano i pokrojono w talarki, a następnie przystąpiono do obróbki termicznej. Część warzyw przełożono do rozgrzanego oleju rzepakowego we frytkownicy tłuszczowej i smażyono przez około 5 minut. Smażenie we frytkownicy beztłuszczowej trwało dłużej, ponieważ około 10 minut.

Pierwsza część badań dotyczyła porównania akceptacji cech organoleptycznych przekąsek warzywnych (konsumenci nie byli poinformowani, z jakich warzyw wykonano przekąski i w jaki sposób). W badaniu wzięły udział 44 osoby, głównie byli to studenci oraz pracownicy Uniwersytetu Ekonomicznego w Poznaniu. Większą część badanych stanowiły kobiety (82%). Blisko 90% ankietowanych było w wieku 18-25 lat. Każdy oceniający otrzymał sześć przekąsek warzywnych, które zostały przygotowane we frytkownicy tłuszczowej i beztłuszczowej. Karta oceny składała się z dwóch części. Pierwsza z nich obejmowała ocenę pożądalności poszczególnych cech podanych przekąsek oraz ocenę pożądalności ogólnej. Wykorzystano 7-punktową skalę hedoniczną, gdzie 1 oznaczało "wybitnie nie lubię" a 7 "ogromnie lubię". W tej części zapytano też konsumentów, czy

domyślają się, z czego zostały przygotowane przekąski oraz czy kupiliby je, gdyby były dostępne na rynku. Z kolei druga część opierała się o dodatkowe (uzupełniające) pytania, dotyczące częstotliwości spożywania warzyw oraz sposobu ich przygotowywania, a także o to, czy respondenci korzystają z frytkownicy, a jeśli tak to jakiego rodzaju. Karta oceny zawierała metryczkę, gdzie respondenci zaznaczali swoją płeć oraz wiek.

Kolejnym etapem pracy było oznaczenie zawartości tłuszczu w warzywach usmażonych we frytkownicy tłuszczowej. Ze względu na specyfikę działania frytkownicy beztłuszczowej (bez stosowania oleju), nie oznaczano zawartości tłuszczu w przekąskach przygotowanych we frytkownicy beztłuszczowej i przyjęto, że przekąski te nie zawierają tłuszczu, tak jak surowe próbki. Do wyznaczenia zawartości tłuszczu wykorzystano aparat ekstrakcyjny marki Velp. Do każdej z prób użyto 50 cm³ eteru naftowego. Proces ekstrakcji składał się z trzech etapów: zanurzenia, wmywania tłuszczu i odzyskiwania rozpuszczalnika. Pierwszy z nich polegał na ekstrakcji tłuszczu i trwał 30 minut. Drugi etap polegał na przepłukiwaniu próby rozpuszczalnikiem z chłodnicy i trwał 45 minut. Z kolei celem ostatniego etapu było odzyskanie rozpuszczalnika, który trwał 30 minut. Zawartość tłuszczu wyznaczono dwukrotnie dla każdej przekąski, a następnie uśredniono wynik.

W ramach projektu wyznaczono także zawartość wody w warzywach surowych oraz w przekąskach po obróbce we frytkownicy tłuszczowej i beztłuszczowej. W celu wyznaczenia tego parametru, oznaczono zmianę masy próbki po włożeniu do suszarki z wymuszonym obiegiem powietrza o temperaturze 105 °C. Proces ten trwał 1,5 godziny. Tak wykonane oznaczenie przeprowadzono dla każdego badanego warzywa w dwóch powtórzeniach. Za wynik przyjęto ich średnią arytmetyczną.

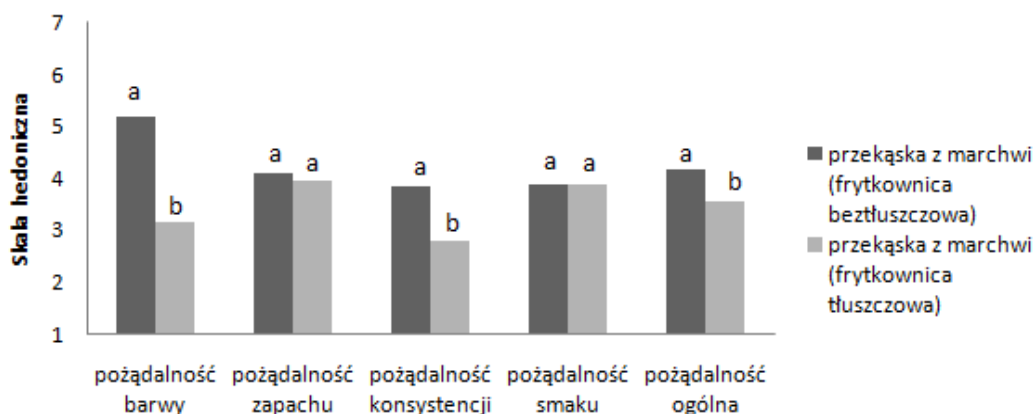
Otrzymane wyniki opracowano w oparciu o program Microsoft Office Excel i Statistica 13.3. Obliczono podstawowe miary takie jak średnia i odchylenie standardowe, a następnie w celu zweryfikowania istotności różnic pomiędzy wartościami średnimi przeprowadzono analizę wariacji ANOVA z testem post-hoc Tukey'a, przy poziomie istotności $p < 0,05$.

Wyniki badań

Pierwsza część oceny konsumenckiej dotyczyła oceny pożądalności barwy, zapachu, konsystencji, smaku oraz ogólnej pożądalności przygotowanych przekąsek. Na podstawie otrzymanych wyników można stwierdzić, że wystąpiły różnice między oceną przekąsek z frytkownicy tłuszczowej i beztłuszczowej. Zauważono także zróżnicowanie w wynikach dla przekąsek przygotowanych z poszczególnych warzyw, czyli ziemniaka, batata i marchwi.

Rysunek 1 przedstawia średnie oceny pożądalności poszczególnych cech i pożądalności ogólnej przekąsek z marchwi. Konsumenci znacznie wyżej ocenili przekąski z marchwi z frytkownicy beztłuszczowej pod względem barwy, konsystencji i pożądalności ogólnej w porównaniu z przekąskami z frytkownicy tłuszczowej. Natomiast pod względem pożądalności zapachu i smaku oceny badanych prób, były do siebie statystycznie podobne.

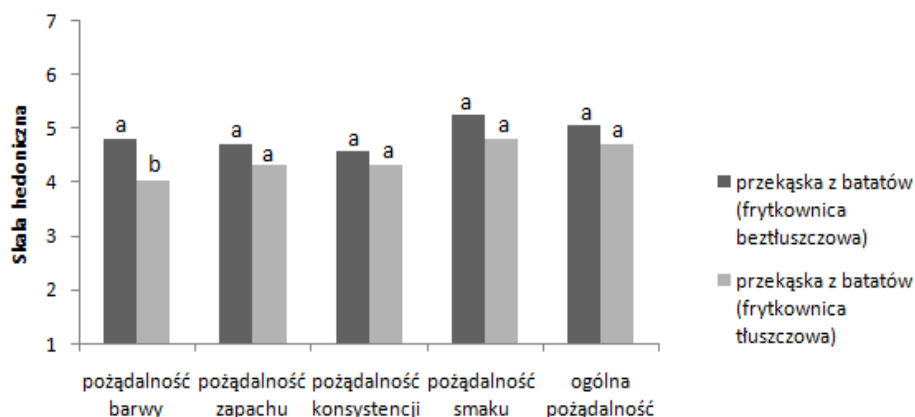
Rysunek 1. Pożądalność cech przekąsek z marchwi



a, b - wartości średnie oznaczone różnymi literami na słupkach różnią się statystycznie istotnie ($p < 0,05$)
 Źródło: Opracowanie własne.

Rysunek 2 ilustruje wyniki oceny pożądalności przekąsek z batatów. Badani ocenili je na porównywalnym poziomie. Tylko stopień lubienia barwy różnił się istotnie statystycznie pomiędzy badanymi próbkami i był on wyższa dla przekąsek przygotowanych we frytkownicy beztłuszczowej.

Rysunek 2. Pożądalność cech przekąsek z batatów



a, b - wartości średnie oznaczone różnymi literami na słupkach różnią się statystycznie istotnie ($p < 0,05$)
 Źródło: Opracowanie własne.

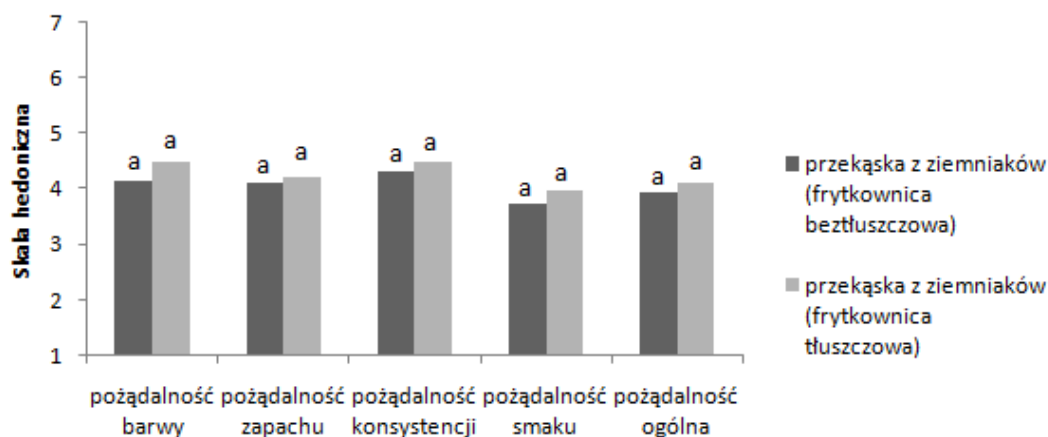
Na rysunku 3 zaprezentowano wyniki oceny konsumenckiej dla przekąsek z ziemniaków. Respondenci przyznali porównywalne noty na umiarkowanym poziomie, zarówno przekąsce przyrządzonej we frytkownicy tłuszczowej jak i beztłuszczowej. Średnie oceny pożądalności wszystkich cech nie różniły się istotnie statystycznie między badanymi próbkami.

Tabela 3. Konsumencka ocena pożądalności warzywnych przekąsek

Pożądalność	Przekąska z marchwi (frytkownica beztłuszczowa)	Przekąska z marchwi (frytkownica tłuszczowa)	Przekąska z batatów (frytkownica beztłuszczowa)	Przekąska z batatów (frytkownica tłuszczowa)	Przekąska z ziemniaków (frytkownica beztłuszczowa)	Przekąska z ziemniaków (frytkownica tłuszczowa)
barwy	5,2 ^d ±1,4	3,2 ^a ±1,1	4,8 ^{c,d} ±1,4	4,0 ^b ±1,4	4,2 ^{b,c} ±1,1	4,5 ^{b,c,d} ±0,9
zapachu	4,1 ^{a,b} ±1,1	3,9 ^a ±1,2	4,7 ^b ±1,0	4,3 ^{a,b} ±1,5	4,1 ^{a,b} ±1,3	4,2 ^{a,b} ±1,2
konsystencji	3,8 ^b ±1,4	2,8 ^a ±1,4	4,6 ^b ±1,0	4,3 ^b ±1,4	4,3 ^b ±1,3	4,5 ^b ±1,2
smaku	3,9 ^a ±1,5	3,9 ^a ±1,3	5,3 ^c ±1,1	4,8 ^{b,c} ±1,6	3,7 ^a ±1,4	4,0 ^{a,b} ±1,2
ogólna	4,2 ^{a,b} ±1,1	3,6 ^a ±1,3	5,1 ^c ±1,0	4,7 ^{b,c} ±1,5	3,9 ^a ±1,1	4,1 ^{a,b} ±1,0

a, b, c, d - wartości średnie oznaczone różnymi literami w wierszu różnią się statystycznie istotnie ($p < 0,05$)
Źródło: Opracowanie własne.

Rysunek 3. Pożądalność cech przekąsek z ziemniaków



a, b - wartości średnie oznaczone różnymi literami na słupkach różnią się statystycznie istotnie ($p < 0,05$)
Źródło: Opracowanie własne.

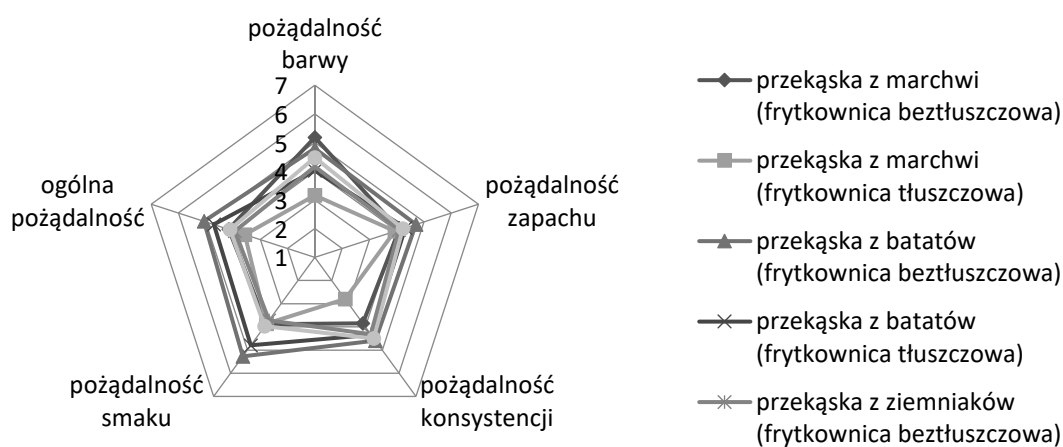
Na podstawie oceny konsumenckiej przekąsek warzywnych (Tabela 3, Rysunek 4) można stwierdzić, że najwyższą pożądalnością barwy spośród badanych próbek cechowała się przekąska z marchwi przygotowana we frytkownicy beztłuszczowej. Najmniej pożądaną barwą, zapachem i konsystencją wykazała się przekąska z marchwi z frytkownicy tłuszczowej. Stopień lubienia konsystencji pozostałych próbek kształtował się na statystycznie tożsamym

poziomie od 3,8 do 4,6 w skali 7 stopniowej. Smak przekąsek z batatów (przygotowanych zarówno we frytkownicy tłuszczowej jak i beztłuszczowej), spotkał się z największym uznaniem konsumentów spośród wszystkich ocenianych próbek.

Podobnie jak w przypadku smaku, najwyższą pożądalność ogólną uzyskała przekąska z batatów, przygotowana we frytkownicy beztłuszczowej (5,1) oraz we frytkownicy tłuszczowej (4,7). Jednakże pożądalność tej drugiej, nie różniła się istotnie statystycznie z przekąską z ziemniaków (frytkownica tłuszczowa) i z przekąską z marchwi (frytkownica beztłuszczowa). Z kolei te były statystycznie podobne do przekąski z ziemniaków (frytkownica beztłuszczowa) i przekąski z marchwi (frytkownica tłuszczowa).

Pytanie skierowane do konsumentów, o to, czy domyślają się z jakich warzyw wykonano przekąski, nie sprawiło większego problemu. Prawie 100% ankietowanych wskazało prawidłowe warzywo w przypadku przekąski z marchwi i ziemniaka. Natomiast trudniejsze okazało się wskazanie batata, z którego wykonano trzecią przekąską i w tym przypadku 73% ankietowanych udzieliło prawidłowej odpowiedzi.

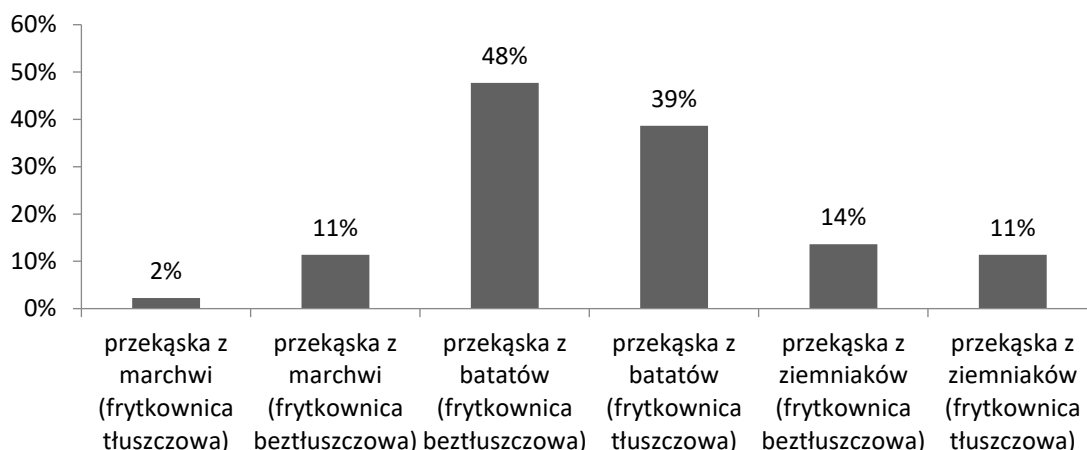
Rysunek 4. Rysunek radarowy konsumentkiej oceny pożądalności warzywnych przekąsek



Źródło: Opracowanie własne.

Kolejne pytanie brzmiało “Którą z przekąsek kupiłabyś/kupiłbyś, gdyby była ona dostępna na rynku?”. Konsumenti najchętniej kupiliby przekąską z batatów wykonanych zarówno w frytkownicy beztłuszczowej (48%) i w tłuszczowej (39%) (Rysunek 5). Z kolei 14% ankietowanych kupiłoby talarki z ziemniaka z frytkownicy beztłuszczowej i 11% talarki z ziemniaka z frytkownicy tłuszczowej. Natomiast najmniejszym zainteresowaniem cieszyły się przekąski wykonane z marchwi we frytkownicy tłuszczowej (2%).

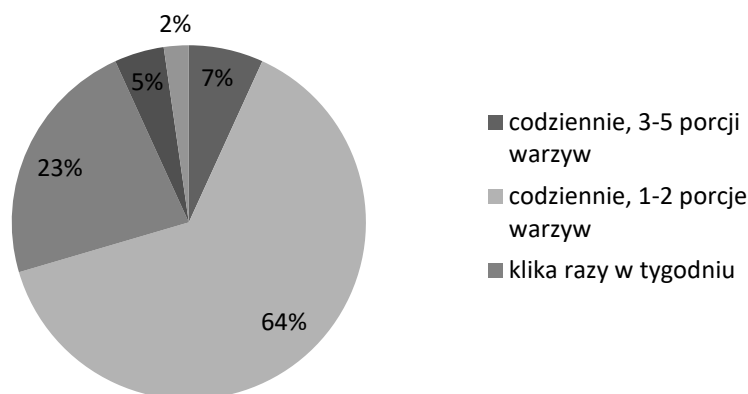
Rysunek 5. Chęć zakupu przekąsek przez respondentów, gdyby były dostępne na rynku



Źródło: opracowanie własne.

Kolejna część pytań dotyczyła zwyczajów żywieniowych konsumentów. Dwie trzecie respondentów wskazało, że sięga po warzywa codziennie (1 lub 2 porcje). Znacznie mniej, bo 23% badanych konsumuje warzywa kilka razy w tygodniu. Z kolei zaledwie 7% osób spożywa 3-5 porcji warzyw dziennie. Natomiast kilka razy w miesiącu spożywa je 5% ankietowanych. Tylko 2% respondentów deklaruje, że spożywa je rzadziej (rysunek 6).

Rysunek 6. Częstotliwość spożywania warzyw przez respondentów

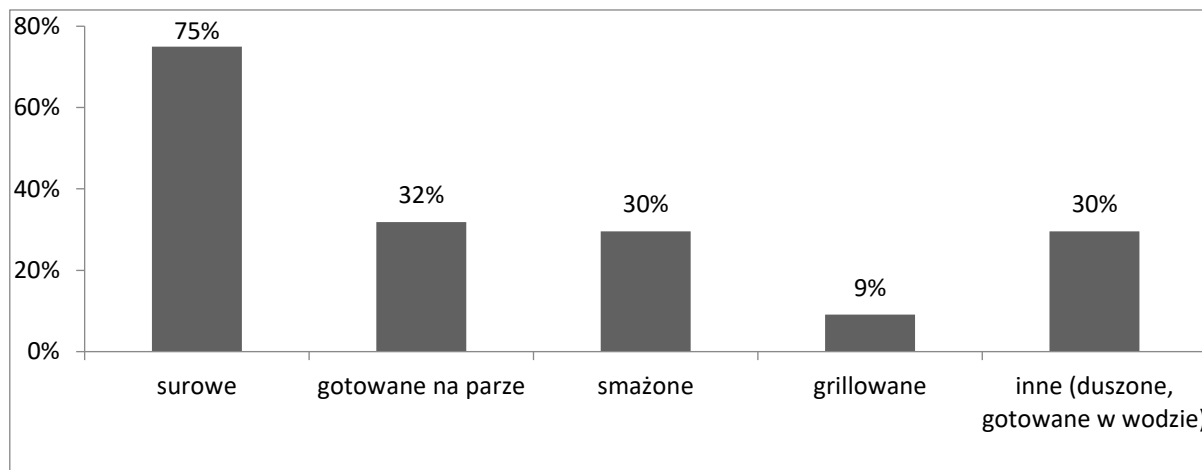


Źródło: Opracowanie własne.

W kolejnym pytaniu ankietowani byli proszeni o wskazanie form przyrządzania warzyw. Najczęściej konsumenci sięgali po warzywa surowe (75%). Co trzeci konsument sięga po warzywa gotowane na parze (32%) i warzywa smażone (30%). Za inny, najczęściej stosowany sposób przygotowywania warzyw, ankietowani wskazali gotowanie w wodzie i duszenie. Zaledwie 9% ankietowanych spożywa grillowane warzywa.

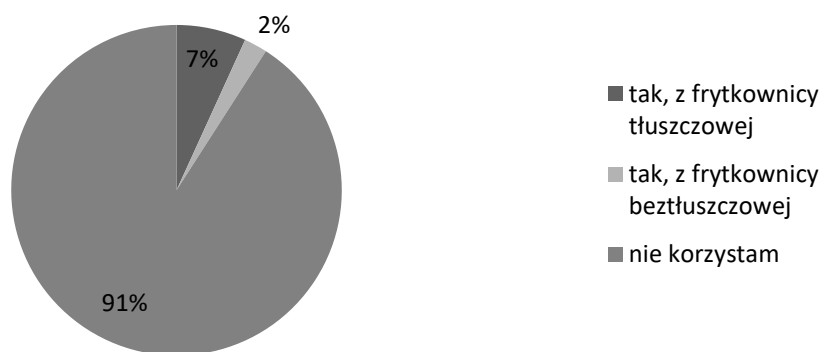
Ostatnie pytanie dotyczyło korzystania z frytkownicy. Tylko 9% badanych zadeklarowało, że korzysta z frytkownicy w domu, głównie z frytkownicy tłuszczowej. Tylko 1 osoba wskazała, że używa frytkownicy beztłuszczowej. Pozostali, czyli aż 91% ankietowanych nie korzysta z tego typu urządzenia.

Rysunek 7. Formy spożywania warzyw



Źródło: Opracowanie własne.

Rysunek 8. Korzystanie z frytkownicy przez konsumentów



Źródło: opracowanie własne.

Kolejnym etapem projektu było oznaczenie tłuszczu pochłoniętego w trakcie przygotowania przekąsek we frytkownicy tłuszczowej. Największą zawartość tłuszczu zawierały przekąski z batatów (18,3%). Zaraz za nimi były przekąski z marchwi, które zawierały 16,9% tłuszczu. Najmniej tłuszczu pochłonęły, w trakcie obróbki, talarki z ziemniaków i było to 13,8%. Omawiane wyniki zawiera poniższy Rysunek 9.

Rysunek 9. Procentowa zawartość tłuszczu w przekąskach z frytkownicy tłuszczowej



Źródło: Opracowanie własne.

Ostatnim etapem projektu było oznaczenie zawartości wody w warzywach i w przyrządzonych z nich przekąskach (Tabela 4).

Tabela 4. Zawartość wody w surowych warzywach oraz po obróbce

Rodzaj przekąski	Zawartość wody w surowej przekąsce [%]		Zawartość wody w przekąsce po frytkownicy tłuszczowej [%]		Zawartość wody w przekąsce po frytkownicy beztłuszczowej [%]		Różnica w zawartości wody [%]	
	średnia	SD	średnia	SD	średnia	SD	po obróbce we frytkownicy tłuszczowej	po obróbce we frytkownicy beztłuszczowej
przekąska z ziemniaków	80,4	0,3	57,9	3,6	63,5	0,7	22,5	16,9
przekąska z batatów	75,0	0,3	22,4	0,8	38,7	0,4	52,6	36,3
przekąska z marchwi	89,2	0,4	28,2	0,2	28,5	1,7	61,0	60,7

Źródło: Opracowanie własne.

Zawartość wody w surowym ziemniaku, wynosiła 80,4%, w przekąsce z frytkownicy tłuszczowej spadła do 57,9%, a w przekąsce z frytkownicy beztłuszczowej do 63,5%. Z kolei zawartość wody w surowym batacie wynosiła 75,0%, w przekąsce z frytkownicy tłuszczowej 22,4%, a w przekąsce z frytkownicy beztłuszczowej 38,7%. Z kolei zawartość wody w surowej marchwi wynosiła 89,2%, w przekąsce z frytkownicy tłuszczowej 28,2%, a w przekąsce z frytkownicy beztłuszczowej 28,5%. Najwyższą zawartością wody cechowała się surowa marchew, natomiast najmniejszą surowe bataty. Najwyższy ubytek wody podczas przygotowywania (obróbki termicznej) przekąski odnotowano dla marchwi a najmniejszy dla

ziemniaka. Stwierdzono, że obróbka przekąsek we frytkownicy tłuszczowej powodowała większą różnicę w zawartości wody w gotowych przekąskach, w porównaniu z przekąskami przygotowywanymi we frytkownicy beztłuszczowej.

Wnioski

Przygotowane przekąski zostały zaakceptowane przez konsumentów pod względem większości ocenianych cech organoleptycznych. Zauważono zróżnicowany stopień lubienia przekąsek z różnych rodzajów warzyw: ziemniaka, batata i marchwi. Z wszystkich przekąsek konsumenci najlepiej ocenili przekąski z batatów, a to przełożyło się na deklarację chęci zakupu tej przekąski, gdyby była dostępna na rynku.

Stwierdzono różnicę w stopniu lubienia wybranych cech przekąsek z marchwi i batatów, przygotowanych w różnego typu frytkownicach (tłuszczowa i beztłuszczowa). W przypadku przekąski z ziemniaka, oceny były na tożsamym poziomie.

Większość badanych konsumentów spożywa codziennie 1-2 porcje warzyw, najczęściej w formie surowej. Respondenci prawie wcale nie korzystają z jakiegokolwiek typu frytkownicy w domu. Zaobserwowano różnice w zawartości tłuszczu w przekąskach z różnego rodzaju warzyw przygotowanych we frytkownicy tłuszczowej.

Obróbka warzyw spowodowała zmniejszenie zawartości wody we wszystkich badanych przekąskach.

Literatura

- Domaradzki P., Malik A., Wójcik W. 2010. *Zawartość β -karotenu witaminy C w wybranych produktach z marchwi*. *Bromat. Chem. Toksykol.* XLIII, 2: 118-123.
- Gajewski M. *Czynniki wpływające na jakość marchwi przeznaczonych do przetwórstwa*, s. 1.
- Główny Urząd Statystyczny. <https://stat.gov.pl> (dostęp 24 lutego 2019).
- Krochmal-Marczak B., Sawicka B. 2013. *Właściwości zdrowotne i znaczenie gospodarcze batat (*Ipomoeabatatas l. (Lam)*)*. [w:] *Ziołolecznictwo, biokosmetyki i żywność funkcjonalna*, PWSZ Krosno, Wrocław.
- Krochmal-Marczak B., Sawicka B. 2018. *Możliwość wykorzystania batata (*Ipomoeabatatas L. [Lam]*) w produkcji żywności funkcjonalnej*, Składniki bioaktywne surowców i produktów roślinnych: 5-14.
- Leszczyński W. 2000. *Jakość ziemniaka konsumpcyjnego*. *Żywn Nauka Technol Jakość*, 4(25 Suppl): 5-27.
- Pijanowski E., Dłużewski M., Dłużewska A., Jarczyk A. 2004. *Ogólna Technologia Żywności*. Wydawnictwo Naukowo-Techniczne, Warszawa: 51.

Portalspolspozywczy.p <http://www.portalspozywczy.pl/slodycze-przekaski/wiadomosci/zdrowe-przekaski-coraz-wazniejsze-w-dziecie-polakow,109710.html> (dostęp 24 luty 2019 r.).

Zarzecka K., Gugąła M., Zarzecka M. 2013. *Ziemniak jako dobre źródło składników odżywczych*. *PostępyFitoterapii*. 3: 191-194.

Różnice w cechach jakościowych pomiędzy napojami roślinnymi handlowymi oraz wytworzonymi domowymi sposobami

Differences in quality characteristics between commercial vegetable drinks and home-made drinks

Zuzanna Mstowska

Uniwersytet Morski w Gdyni
Wydział Przedsiębiorczości i Towaroznawstwa
Naukowe Koło Towaroznawstwa „Cargo”
Opiekun koła: dr inż. Przemysław Dmowski

Abstract

Today there is a growing awareness of healthy eating, and how food products have been produced. More and more people in our society turn to traditional cow's milk substitutes by buying plant-based drinks. Due to the growing market, vegan plant products become a daily utility product. They are an alternative to allergies to cow's milk protein or lactose intolerance. A very interesting alternative to vegetable drinks available in the retail market are drinks produced in-house.

The aim of the study is to determine the differences between plants origin drinks produced on an industrial scale and home-made products. The study was conducted in a group of students of UMG. The study was based on sensory evaluation of products. The duo-trio method of comparing two samples of unknown quality, one of which is standard and the other is different, with the indicated and determined standard constituting the reference sample, was applied. The study used were coconut and rice drinks available for retail sale and vegetable drinks made from the same raw materials as mentioned above. The results of the study showed significant differences in the tested products.

Keywords: plant origin drinks, cow's milk substitutes, duo-trio method

Wstęp

W dzisiejszych czasach wzrasta świadomość dotycząca zdrowego odżywiania, produktów spożywczych oraz tego, w jaki sposób zostały wytworzone. Coraz większa grupa naszego społeczeństwa sięga po zamienniki tradycyjnego mleka krowiego, decydując się na kupno napoi roślinnych.

Według Rozporządzenia Rady o jednolitej wspólnej organizacji rynku (WEnr 1234/2007 z dnia 22 października 2007 roku), ustanawiającym wspólną organizację rynków rolnych oraz przepisy szczegółowe, dotyczące niektórych produktów rolnych „mleko” definiuje się jako produkt pochodzący z udoju co najmniej jednej krowy. Zgodnie z prawem żywnościowym, tylko mleko pochodzenia krowiego można określić skróconą nazwą „mleko”. Wydzieliny gruczołów mlecznych innych zwierząt produkujących mleko, powinny być

określane rozszerzoną nazwą, uwzględniającą pochodzenie np.: „mleko owcze”. Produkty spożywcze określone są jako „przetwory mleczne”, które oznaczają wszystkie przetwory, inne niż mleko a w szczególności mleko odtłuszczone, masło, śmietanę czy ser (Ziarno i Zaręba 2016). Dobrą alternatywą dla produktów mlecznych pochodzenia zwierzęcego, są napoje roślinne. Napoje roślinne są zawiesinami rozpuszczonego i dezintegrowanego materiału roślinnego w wodzie. Wytwarza się je poprzez ekstrakcję materiału, a następnie oddzielenie cieczy i utrwalanie za pomocą homogenizacji i obróbki cieplnej. Napoje mogą być spożywane jako gotowy produkt lub dalej przetworzony (Foods for Special Dietary... 2016). Wartości odżywcze napojów roślinnych zależą od rodzaju użytych surowców, przebiegu procesu oraz ewentualnego wzbogacania składu (Hoffmann i Kostyra 2015). Zgodnie z prawem unijnym nie ma takiego zwrotu jak „mleko kokosowe” czy „mleko ryżowe”, można określać te produkty tylko jako „napój”. Takie napoje cieszą się dużą popularnością. Ze względu na rozrastający się rynek wegański, produkty roślinne stają się codziennym towarem użytkowym. Są one alternatywą przy alergiach na białko mleka krowiego czy przy dolegliwości nietolerancji laktozy. Laktoza jest to cukier mleczny złożony z cząsteczek glukozy i galaktozy. Występuje w mleku wszystkich ssaków, np. mleko kobyce zawiera jej ok. 7%, a mleko krowie - 4%. Laktoza jest rozkładana w organizmie przez enzym – laktazę (Lewandowska 2018). Brak tego enzymu skutkuje nietolerancją laktozy, która jest przyczyną problemów związanych z układem pokarmowym, oddechowym, ale również problemów skórnych.

Na rynku jest dostępnych wiele różnych wariantów smakowych krowiego substytutu mleka. Najpopularniejszymi napojami roślinnymi, dostępnymi w sprzedaży detalicznej są:

- napój kokosowy,
- napój ryżowy,
- napój sojowy,
- napój migdałowy,
- napój owsiany.

Napój kokosowy - to napój wytworzony z miąższu kokosa z dodatkiem wody. W jego skład wchodzi takie pierwiastki jak: żelazo, magnez, fosfor, potas i cynk. W porównaniu do innych napojów roślinnych, zawiera on stosunkowo dużą wartość nasyconych kwasów tłuszczowych (około 20%), charakteryzuje się także wyższą kalorycznością w stosunku do innych napoi roślinnych.

Napój ryżowy jest to substancja płynna o słodkim smaku, przypominającym mleko krowie. Pozyskiwany najczęściej z brązowego ryżu. Należy on do zbóż bezglutenowych, więc

może być spożywany przez osoby będące na diecie bezglutenowej. Napój ryżowy to dobre źródło witamin z grupy B (zwłaszcza witaminy B1, B3 oraz B6) i włókna pokarmowego. Cechuje się on jednak najwyższą kalorycznością, co wynika z wysokiej zawartości skrobi w ziarnie ryżu. Szklanka napoju ryżowego może dostarczyć nawet 150 kcal. (Nagel 2019)

Napój sojowy jest produktem otrzymywanym poprzez namaczanie w wodzie nasion soi. Wyróżnia się pod względem zawartości białka. Zwykle dostarcza go około 3%. Fortyfikacja napoju sojowego sprawia, że staje się on najlepszym substytutem mleka krowiego (Nagel 2019).

Napój migdałowy jest to słodkawa substancja otrzymywana przez moczenie orzechów w wodzie, zmielenie, a następnie przesączenie. Napój jest dobrym źródłem jednonienasyconych kwasów tłuszczowych, witaminy E, magnezu, wapnia i potasu (Nagel 2019).

Napój owsiany jest substancją otrzymaną z płatków owsianych moczonych w wodzie. Dostarcza największą ilość cennych beta-glukanów, które mają udowodnione działanie obniżające stężenie cukru we krwi (Nagel 2019).

Ze względu na swoje unikalne właściwości odżywcze, wykluczenie mleka i jego przetworów, może powodować niedobory pokarmowe, jeśli całościowa dieta jest nieprawidłowo zbilansowana. W przypadku napojów roślinnych, warto zwrócić uwagę na napoje fortyfikowane. Fortyfikacja polega na wzbogacaniu żywności w jeden lub kilka składników odżywczych, niezależnie od tego, czy występują one w danym produkcie naturalnie, czy też nie. Warto wybierać te produkty roślinne, które są wzbogacane w wapń, witaminę D, witaminy B2 i B12 oraz składniki mineralne, tj. magnez czy cynk (Nagel 2019). Niestety, napoje roślinne handlowe są relatywnie drogie i nie każdego stać na ich kupno. Przykładowo napój kokosowy w sklepie kosztuje 11,99 zł za litr, napój ryżowy 8,99 zł za litr. Ciekawą alternatywą dla napoi roślinnych, dostępnych w sprzedaży detalicznej, jest wytwarzanie takiego produktu we własnym zakresie. Gdy weźmiemy pod uwagę zużycie wody oraz koszty potrzebnych składników, koszt jednostkowy takiego napoju jest wielokrotnie niższy, np.: napój kokosowy 3,99 zł za jeden litr, napój ryżowy 1,99 zł za jeden litr.

Cel pracy

Celem artykułu było określenie różnic sensorycznych dotyczących smaku, pomiędzy napojami roślinnymi wytworzonymi na skalę przemysłową a produktami wytworzonymi metodami domowymi.

Materiał badawczy

Materiał badawczy stanowiły cztery rodzaje napojów roślinnych- napój kokosowy oraz ryżowy dostępne w sprzedaży detalicznej oraz napoje - kokosowy i ryżowy, które zostały wytworzone na potrzebę badania.

Przygotowanie produktów do badań

Aby wytworzyć samodzielnie napój ryżowy, potrzebny był jeden litr wody na szklankę ryżu. Ryż pozostawiono zalany wodą na ok. 12 godzin, po czym dodano kolejne dwie szklanki wody i dokładnie zmiksowano w kielichu blendera. Zmiksowaną substancję przelano przez sito o małych oczkach, wyłożone gazą. Proces powtarzano do momentu uzyskania jednolitej cieczy, pozostały osad usunięto.

Do produkcji napoju kokosowego potrzebne było 200 gram wiórków kokosowych oraz 1 litr wody. Wiórki wsypano do malaksera i zmiksowano na proszek, następnie dodawano wodę w 3 partiach i ponownie zmiksowano. Uzyskaną masę przelano do pojemnika z sitkiem wyłożonym gazą.

Kolejnymi substytutami mleka krowiego użytymi do badania były dwa napoje roślinne dostępne w sprzedaży detalicznej.

Napój roślinny kokosowy firmy JOYA. W jego skład wchodzi: woda, mleko kokosowe (5,3%) (krem kokosowy, woda), ryż (3,3%), fosforan tri wapniowy, stabilizatory (karagen, guma guar, guma ksantanowa) sól morską, witaminy (B12, D2), aromaty.

Ostatnim materiałem badanym był naturalny napój ryżowy dostępny w sprzedaży detalicznej firmy ALPRO, w którego skład wchodzi: woda, ryż (12%), olej słonecznikowy, fosforan triwapniowy, maltodekstryna, emulgator (lecycyny (z rzepaku)), sól morską, aromat, stabilizator (guma Gellan), witaminy (ryboflawina (B2), B12, D2), regulator kwasowości (fosforany potasu).

Metody badawcze

W celu określenia jakości sensorycznej badanych produktów – różnic pomiędzy napojami roślinnymi wytworzonymi na skalę przemysłową a produktami wytworzonymi we własnym zakresie, wykorzystano jedną z metod różnicowych – metodę duo-trio (PN-EN ISO 10399:2010). Zadanie stawiane oceniającemu, polega na zapoznaniu się z jakością próbki „S” (standardowej), a następnie na stwierdzeniu, która z dwóch nieznanymi próbek jest identyczna ze standardem. Badana grupa oceniła produkty pod względem różnic natężenia smaku. (Baryłko-Pikielna i Matuszewska 2009).

Warunki realizacji badania

Badanie przeprowadzono w laboratorium analizy sensorycznej Uniwersytetu Morskiego w Gdyni, wśród grupy studentów liczącej 30 osób, którzy odbyli zajęcia z przedmiotu „Sensoryczna Ocena Jakości”. Wśród grupy studentów, w ocenie semi-konsumenckiej, wzięło udział siedmiu mężczyzn oraz dwadzieścia trzy kobiety. Każdy oceniający przeprowadził dwie oddzielne oceny (każdą w jednym powtórzeniu): ocenę napojów ryżowych i ocenę napojów kokosowych

Przygotowanie próbek do badań

Na potrzebę badania sensorycznego, przygotowano dwa zestawy próbek, zakodowanych w odpowiedni sposób określony w książce „Sensoryczna ocena jakości” (Babicz-Zielińska i in, 2006).

Każdy oceniający otrzymał do oceny dwa zakodowane zestawy zawierające po trzy próbki. W pierwszym zestawie oceniający otrzymał napój ryżowy, w którym dwie próbki były napojem wytworzonym we własnym zakresie, oraz jedną dostępną w sprzedaży detalicznej (jedna próbka napoju roślinnego wytworzonego na własną rękę została oznaczona jako standard). Analogicznie podano do oceny próbki napoju kokosowego.

Próbki zostały podane do oceny w ciemnych butelkach, aby barwa oceniona za pomocą zmysłu wzroku, nie wpływała na ocenę badanych produktów. Oceniający otrzymał oddzielne karty dla każdego rodzaju napojów.

Omówienie i dyskusja wyników

Ocenę przeprowadzono w celu określenia różnic sensorycznych pomiędzy badanymi produktami. Interpretacja statystyczna wyników w metodzie duo-trio, jest identyczna jak w metodzie parzystej: po ocenie zlicza się liczbę prawidłowych odpowiedzi i interpretuje się wyniki, korzystając z tablicy statystycznej. Jeżeli liczba uzyskanych wyników eksperymentalnie trafnych wskazań jest wyższa, niż odczytana z tablicy graniczna liczba poprawnych wyników (w stosunku do ogólnej liczby wykonanych ocen) wnioskować można, że próbki różnią się między sobą istotnie (na odpowiednim poziomie istotności) (Baryłko-Pikielna i Matuszewska 2009).

Po przeprowadzeniu oceny semi-konsumenckiej, 100% ankietowanych w obu przypadkach badanych produktów wskazała poprawnie próbkę identyczną ze standardem.

Wytworzone napoje - kokosowy oraz ryżowy, miały konsystencję dużo gęstsza od napojów dostępnych w sprzedaży detalicznej. Przyczyną tego mógł być proces wytwarzania takiego produktu, proporcje w jakich produkt został wytworzony, czy rodzaj ryżu. Uzyskanie stabilnej konsystencji napojów roślinnych, wymaga procesów filtracji, wirowania i homogenizacji, a dodatkowo może być wspomagane poprzez zastosowanie stabilizatorów, zagęstników i emulgatorów (np. celulozy, tapioki, gumy gellan, guaru, karagenu, mączki chleba świętojańskiego, czy lecytyny) (Krawczyk i in. 2004).

Rozpatrując różnicę w intensywności słodczy wegańskich substytutów mleka, przyczyną może być fakt, iż w trakcie produkcji tego typu napojów, należących do grupy o wysokiej zawartości tłuszczu – orzechy i nasiona oleiste – poddawane zostają procesowi odtłuszczenia na drodze tłoczenia na zimno. Natomiast w przypadku surowców zbożowych (do których zaliczany jest ryż), dodatkowo przeprowadza się enzymatyczną hydrolizę skrobi, w wyniku której wytwarzają się maltodekstryny, maltoza i glukoza. Dzięki tym produktom ubocznym procesowi, napój nabiera słodkiego smaku. Do produkcji napojów roślinnych metodami domowymi, nie została użyta substancja słodząca oraz został zastosowany jedynie dwukrotny proces filtracji przez gazę i sitko.

Podsumowanie

Wykazano znaczne różnice próbek w zakresie badania odmienności w smaku substytutów tradycyjnego mleka krowiego. Według opinii badanej grupy, napoje były smaczne, lecz znacznie różniły się konsystencją oraz poziomem smaku słodkiego. Dla osób, które preferują produkty mniej słodkie, zalecne byłoby ich wytwarzanie we własnym zakresie – minimalizując przy tym koszty oraz ilość wytworzonych odpadów.

Wnioski

Badane napoje kokosowe oraz ryżowe, dostępne w sprzedaży detalicznej oraz wytworzone we własnym zakresie, znacznie się od siebie różnią pod względem cech organoleptycznych.

Literatura

- Babicz-Zielińska E., Rybowska A., Obniska W., 2016, *Sensoryczna ocena jakości żywności*, Wydawnictwo Akademii Morskiej w Gdyni, Gdynia.
- Baryłko N., Matuszewska I., 2009, *Sensoryczne badania żywności. Podstawy-metody-zastosowania*, 2009, Wydawnictwo Naukowe PTTŻ, Kraków.
- Hoffman M., Kostyra E., 2015 *Jakość sensoryczna i wartość odżywcza wegańskich substytutów mleka krowiego*, Postępy techniki przetwórstwa spożywczego, 1: 52-57.

- Krawczyk G., Fisher G., Sewall C., 2004, *Stabilizing UHT soy beverages*. Dairy Foods, 105, 12: 48-49.
- Lewandowska A., 2018, *Diet and Training*, Burda Media Polska Sp. Z o. o., Warszawa.
- Makinen O., Wanhalinna V., Zannini E., Arendt E., 2016, *Foods for Special Dietary Needs: Non-dairy Plant-based Milk Substitutes and Fermented Dairy-type Products*, Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 56: 339-349.
- Nagel P. <https://ncez.pl/abc-zywienia-/zasady-zdrowego-zywienia/czy-warto-pic-napoje-roślinne> -- (dostęp 6 marca 2019 r.).
- Norma PN-EN ISO 10399:2010 *Analiza Sensoryczna. Metodologia. Metoda duo-trio*.
- Rozporządzenie Rady (WE) nr 1234/2007 z dnia 22 października 2007 roku o jednolitej wspólnej organizacji rynku.
- Ziarno M., Zaręba D., 2016, *Forum Mleczarskie Biznes*, 1 (23).

Wykorzystanie ziemniaka jadalnego jako produktu regionalnego w agroturystyce

The use of potato as a regional product in agritourism

Bartłomiej Bielawa
Karina Zywar
Sylwia Goliszewska

Państwowa Wyższa Szkoła Zawodowa im. Stanisława Pigoń w Krośnie
Instytut Zdrowia i Gospodarki
Studenckie Koło Naukowe Produkcji i Bezpieczeństwa Żywności
Opiekun: dr inż. Barbara Krochmal Marczak, dr inż. Marta Pisarek

Abstract

The purpose of the work was to develop a project of potato cultivation technology and its profitability in the context of using this plant as an agritourist attraction on a farm located in the Gorlice commune. Technological cards were developed for four varieties and then indirect and direct costs as well as income were calculated. In addition, a tourist event program for this farm was developed based on potato as attractions. Based on the prepared project, the following conclusions can be drawn:

The cultivation of edible potatoes with methods similar to organic in the agritourism farm of the Gorlice commune is profitable. The correct selection of varieties was important, which translated into high yields and lower costs associated with the protection of potatoes.

Increasing the number of agritourists and income related to running an agritourism farm is possible thanks to increasing the attractiveness of the offer.

Keywords: potato, technological card, agritourism, traditional product

Wstęp

Psianka ziemniak (*Solanumtuberosum* L.) to roślina znana i uprawiana od wieków. Pochodzi z Ameryki Południowej, skąd rozprzestrzeniła się na cały świat (Korolewicz 2013). Dotarła również do Polski, gdzie stała się jednym z podstawowych surowców żywnościowych, produkowanych w rolnictwie. Obecnie, pomimo obserwowanego spadku spożycia ziemniaka, jego uprawa jest nadal opłacalna (Zarzecka 2014). Wymaga jednak znacznych nakładów przypadających na jednostkę powierzchni. Efektywność ekonomiczna zależy w dużej mierze od stosowanej technologii uprawy oraz cen zbytu ziemniaka, które ustalane są wolnorynkowo i zależą od popytu i podaży (Gugała i in. 2014).

Ziemniak, uprawiany i spożywany na terenie całego kraju, wpisał się w jego tradycję kulinarną. Stanowił samodzielne dania, a także był częścią rozmaitych potraw. W celu ochrony i zachowania tego dziedzictwa kulinarnego oraz ocalenia od zapomnienia dawnych smaków,

niektóre dania i potrawy ziemniaczane wpisano na Listę Produktów Tradycyjnych (<https://www.gov.pl/web/rolnictwo/lista-produktow-tradycyjnych12>).

Tabela 1. Wybrane cechy ogólne, użytkowe i wyglądu zewnętrznego wybranych odmian ziemniaków jadalnych uprawianych w gospodarstwie agroturystycznym

Wyszczególnienie	Lord	Bellarosa	Tajfun	Jelly
Klasa wczesności	bardzo wczesna	wczesna	średnio wczesna	średnio późna
Rok rejestracji	1999	2006	2004	2005
Rok włączenia do Listy Odmian Zalecanych	2008	2010	2009	2009
Dostawca (producent) materiału elitarnego	HZ Zamarte	Europlant Niemcy	PMHZ Strzekęcín	Europlant Niemcy
Plon t/ha	41,4	38,3	49,8	50,2
Średnia zawartość skrobi (%)	12,2	11,7	14,5	11,0
Średnia zawartość suchej masy (%)	18,4	19,8	22,3	17,1
Średnia zawartość witaminy C (mg%)	16,0	18,7	21,2	11,5
Zawartość glikoalkaloidów (mg·kg ⁻¹)	35	57	117	82
Cechy zewnętrzne bulw				
Kształt bulw	oow	oow	ow	ow
Regularność kształtu	6,5	7,5	7	8
Wielkość bulw	8	9	9	9
Barwa skórki	żółta	czerwona	żółta	żółta
Gładkość skórki	gładka	chropowata	średnio gładka	gładka
Głębokość oczek	7	7	7	7,5
Kolor kwiatu	biały	czerwono-fioletowy	biały	biały
Kolor podstawy kielków świetlnych	zielony	czerwono-fioletowy	czerwono-fioletowy	czerwono-fioletowy
Cechy wewnętrzne bulw				
Barwa miąższu	jasnożółta	żółta	żółta	żółta
Smak	7	7	7	7,5
Ciemnienie miąższu	surowego	8	8	8,5
	gotowanego	8,5	8	8,5
Typ kulinarny	AB	B	B-BC	B

Kształt bulw: oow - okrągło owalny, ow - owalny; wielkość bulw: skala 1-9 (1-bardzo małe, 9-bardzo duże); głębokość oczek: skala 1-9 (1-bardzo głębokie, 9-bardzo płytkie); smak: skala 1-9 (1-zły, 9-bardzo dobry); ciemnienie miąższu surowego i gotowanego: skala 1-9 (1- ocena najgorsza, 9 – ocena najlepsza); typ kulinarny: AB (zwięzły, sałatkowy), B (lekko zwięzły), BC (lekko mączysty)

Źródło: Opracowanie własne.

Obecnie obserwuje się wśród konsumentów coraz większą chęć powrotu do tradycji. Poszukują oni dawnych zwyczajów oraz swojskich smaków. Powrót do przeszłości i natury oferują turystom gospodarstwa agroturystyczne. Poprzez bogatą i ciekawą ofertę, stają się bardzo ważnym propagatorem kultury wiejskiej. Ziemniak, z racji swojej bogatej i długoletniej historii na terenach Polski oraz walorów smakowych, może stać się potencjalnym produktem agroturystycznym w gospodarstwie położonym w gminie Gorlice (woj. małopolskie).

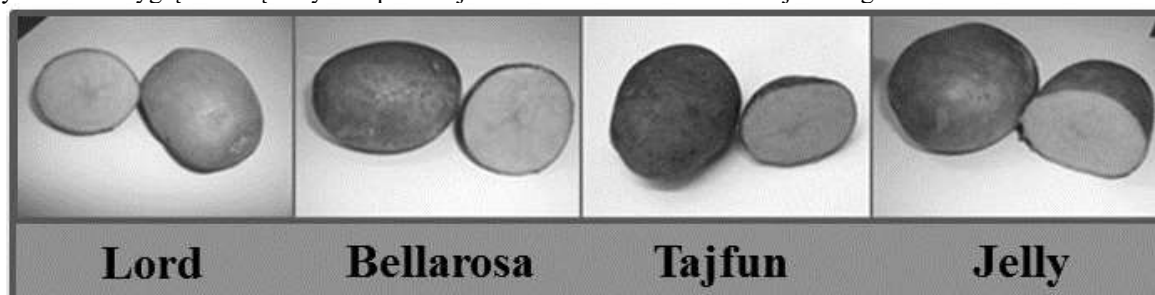
Cel i metoda badawcza

Celem pracy było opracowanie projektu technologii uprawy ziemniaka jadalnego i wykorzystania tej rośliny jako unikatowego produktu agroturystycznego.

Dla sprawdzenia opłacalności tego przedsięwzięcia, wykonano teoretyczny projekt uprawy ziemniaka (karty technologiczne, analiza kosztów i przychodów) zgodnie z ogólnie przyjętymi zasadami w produkcji roślinnej i ekonomice rolnictwa (Harasim i in. 2004). Wszystkie dane odnoszą się do 2015 roku. Zaproponowano ekstensywną uprawę zbliżoną do ekologicznego systemu, a otrzymany surowiec wykorzystano do zaprojektowania ciekawego produktu agroturystycznego. Aby osiągnąć dodatkowe źródło dochodu oraz zwiększyć atrakcyjność oferty, wprowadzono 4 odmiany ziemniaka. Odmiany różnią się klasą wczesności oraz innymi cechami, które przedstawiono w tabeli 1.

Wygląd zewnętrzny i przekroje uprawianych odmian ziemniaka jadalnego, przedstawiono na rysunku 1.

Rysunek 1. Wygląd zewnętrzny i na przekroju czterech odmian ziemniaka jadalnego



Źródło: Opracowanie własne na podstawie www.soleks.pl/nasiona.php?s=2.

Wyniki badań

W tabeli 2 i 3 przedstawiono karty technologiczne uprawy ziemniaka w systemie ekstensywnym dla gospodarstwa agroturystycznego położonego w gminie Gorlice. Zawierają one rodzaje zabiegów uprawowych, maszyn rolniczych i ciągników niezbędnych do ich wykonania, a także ilość pracy i szacunkowy czas trwania każdej czynności. Założono 5-letnie zmianowanie, w którym ziemniaki uprawiane na oborniku stanowią 20% płodozmianu, następnie jest pszenica ozima z wsiewką koniczyny czerwonej z trawami, koniczyna czerwona z trawami, rzepak ozimy i pszenica ozima.

Tabela 2. Karta technologiczna uprawy ziemniaków jadalnych odmian Lord i Bellarosa

Rodzaj czynności rolniczej lub zabiegu	Rodzaj maszyny lub urządzenia	Rodzaj ciągnika i jego moc	Czas wykonania zabiegu (h)
Jesienne zabiegi uprawowe			
Uprawa poźniwna	Agregat ścierniskowy	Ciągnik New Holland, moc 60 KM	0,67
Nawożenie PK	Rozsiewacz nawozów		0,33
Bronowanie	Brona		0,50
Bronowanie			
Nawożenie obornikiem	-	(usługa)	
Orka przedzimowa	Pług obracalny	Ciągnik Ursus, moc 98KM	1,17
Wiosenne zabiegi uprawowe			
Przygotowanie sadzaniaków (podkiełkowanie)	-	Praca ręczna	12,00
Bronowanie	Brona	Ciągnik New Holland, moc 60 KM	0,50
Doprawienie gleby	Agregat uprawowy		0,67
Sadzenie	Sadzarka do ziemniaków		2,00
Pielęgnacja			
Bronowanie	Brona chwastownik	Ciągnik New Holland, moc 60 KM	0,50
Bronowanie			
Obsypywanie	Pielniko-obsypnik		1,33
Ochrona przed zarzą ziemniaka	Opryskiwacz polowy		0,50
Obsypywanie	Pielniko-obsypnik		1,33
Przygotowanie do zbioru i zbiór			
Niszczenie łęcin	Kosiarko-rozdrabniacz	Ciągnik New Holland, moc 60 KM	1,00
Zbiór	Kombajn ziemniaczany	Ciągnik Ursus, moc 98KM	3,00
Transport bulw	Przyczepa	Ciągnik New Holland, moc 60 KM	0,08

Zródło: Opracowanie własne.

W trakcie wykonywania zabiegów uprawowych przestrzegano Kodeksu Dobrej Praktyki Rolniczej (Kodeks... 2004). Do zasad zawartych w tym kodeksie należą między innymi:

- stosowanie sadzaniaków kwalifikowanych, zdrowych, nieuszkodzonych i podkiełkowanych, co zmniejsza ryzyko wystąpienia chorób przenoszonych przez bulwy oraz przekłada się na wcześniejsze, liczniejsze i bardziej wyrównane wschody roślin;
- odpowiedni płodozmian, w którym ziemniak uprawiany jest na tym samym polu nie częściej niż co 5 lat (zapobiega to przenoszeniu się chorób i szkodników);
- dobór odmian ziemniaków dostosowanych do lokalnych warunków glebowo-klimatycznych (z LOZ dla woj. małopolskiego na 2015r.) oraz o podwyższonej odporności na agrofagi (np. całkowita odporność odmian na mątwika ziemniaczanego);

- stosowanie optymalnej liczby sadzeniaków (46000 szt./ha), terminu i parametrów sadzenia;
- wykonywanie mechanicznych zabiegów pielęgnacyjnych (np. zwalczanie chwastów za pomocą brony chwastownik);
- prawidłowe wykonywanie późniejszej i przedwiosennej uprawy roli, co ogranicza zachwaszczenie (np. kilkakrotne bronowanie pola po uprawie późniejszej, głęboka orka przedzimowa);
- stosowanie środków ochrony roślin przeznaczonych dla rolnictwa ekologicznego mających ograniczony negatywny wpływ na środowisko;
- zakupienie tylko niezbędnych środków ochrony roślin w opakowaniach jednostkowych dopasowanych do powierzchni uprawy, dzięki czemu nie ma konieczności przechowywania niewykorzystanych środków chemicznych;
- wykonywanie zabiegów ochrony roślin podczas bezwietrznej pogody, w godzinach wieczornych, zgodnie z zaleceniami podanymi w etykiecie-instrukcji stosowania danego preparatu;
- przed wykonywaniem zabiegów ochrony roślin sprawdzenie sprawności działania opryskiwacza oraz dokładne czyszczenie sprzętu z resztek preparatu po każdym zabiegu;
- wykonywanie zabiegów ochrony roślin w odzieży ochronnej;
- stosowanie optymalnej dawki nawozu naturalnego (35 t/ha), wprowadzającego do gleby 164,5 kg azotu całkowitego; wartość ta nie przekracza 170 kg azotu całkowitego na 1 ha użytków rolnych na rok, co świadczy o optymalnej obsadzie zwierząt w gospodarstwie;
- rozrzucenie nawozu naturalnego (obornika) w ostatniej dekadzie października, czyli w terminie mieszczącym się w zalecanym przedziale 1 marzec-30 listopad;
- wywiezienie obornika w dzień pochmurny, bezwietrzny i szybkie jego przyoranie, co zapobiega stratom azotu.

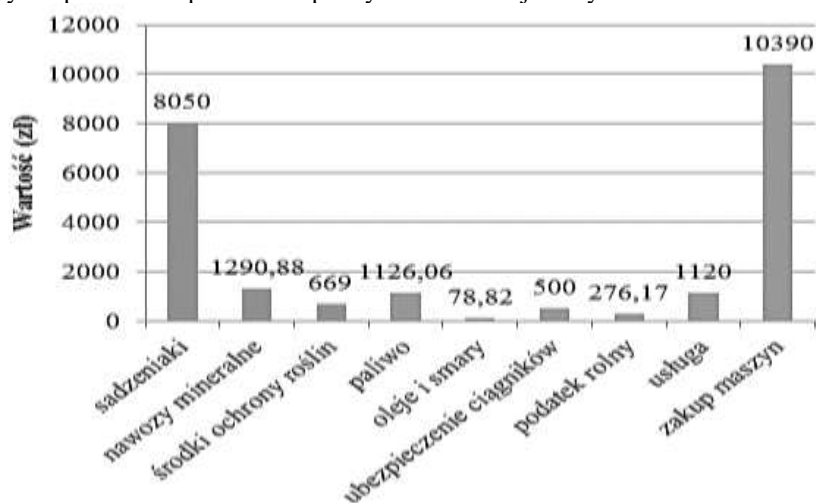
Do kosztów bezpośrednich zaliczono koszty zakupu sadzeniaków, nawozów i środków ochrony roślin. Natomiast do kosztów pośrednich: paliwo, oleje i smary, ubezpieczenie ciągników, podatek rolny, usługę, zakup maszyn. Największym kosztem bezpośrednim był zakup sadzeniaków, a wśród kosztów pośrednich – zakup maszyn rolniczych. Zestawienie kosztów bezpośrednich i pośrednich, przedstawiono na rysunku 2.

Tabela 3. Karta technologiczna uprawy ziemniaków jadalnych odmian Tajfun i Jelly

Rodzaj czynności rolniczej lub zabiegu	Rodzaj maszyny lub urządzenia	Rodzaj ciągnika i jego moc	Czas wykonania zabiegu (h)
Jesienne zabiegi uprawowe			
Uprawa poźniwna	Agregat ścierniskowy	Ciągnik New Holland, moc 60 KM	0,67
Nawożenie PK	Rozsiewacz nawozów		0,40
Bronowanie	Brona		0,47
Bronowanie			
Nawożenie obornikiem	-	(usługa)	-
Orka przedzimowa	Plug obracalny	Ciągnik Ursus, moc 98KM	1,33
Wiosenne zabiegi uprawowe			
Przygotowanie sadzoniaków (podkielkowywanie)	-	Praca ręczna	12,00
Bronowanie	Brona	Ciągnik New Holland, moc 60 KM	0,47
Doprawienie gleby	Agregat uprawowy		0,67
Sadzenie	Sadzarka do ziemniaków		2,00
Pielęgnacja			
Bronowanie	Brona chwastownik	Ciągnik New Holland, moc 60 KM	0,47
Obsypywanie	Pielniko-obsypnik		1,33
Ochrona przed zarazą ziemniaka	Opryskiwacz polowy		0,50
Obsypywanie	Pielniko-obsypnik		1,33
Ochrona przed zarazą ziemniaka	Opryskiwacz polowy	0,50	
Ochrona przed stonką ziemniaczaną			
Ochrona przed zarazą ziemniaka			
Ochrona przed stonką ziemniaczaną			
Przygotowanie do zbioru i zbiór			
Niszczenie łęcin	Kosiarko-rozdrabniacz	Ciągnik New Holland, moc 60 KM	1,17
Zbiór	Kombajn ziemniaczany	Ciągnik Ursus, moc 98KM	4,00
Transport bulw	Przyczepa	Ciągnik New Holland, moc 60 KM	0,08

Źródło: Opracowanie własne.

Rysunek 2. Koszty bezpośrednie i pośrednie uprawy ziemniaków jadalnych



Źródło: Opracowanie własne na podstawie badań.

Przyjęto, że plony bulw ziemniaków wyniosły: odmiana Lord – 18 t, Bellarosa – 17 t, Tajfun – 20 t, Jelly - 22 t. Dla potrzeb wyżywienia, prowadzenia warsztatów, sprzedaży ziemniaków agroturystom oraz sadzenia w roku następnym, w gospodarstwie pozostawiono po 2 t ziemniaków każdej z odmian. Założono, że każdego roku połowa sadzeniaków potrzebnych do sadzenia, będzie pochodziła z własnych zapasów, a druga połowa z zakupu. Pozostałą część plonu sprzedano hurtowo, przyjmując średnią cenę 800 zł/t. W efekcie właściciele osiągnęli zysk ze sprzedaży w wysokości ponad 55 tys. zł. Wyliczenie przychodów ze sprzedaży ziemniaków przedstawia tabela 4.

Tabela 4. Przychody ze sprzedaży bulw ziemniaka jadalnego

Odmiana	Plon (t/0,5ha)	Ilość ziemniaków na potrzeby własne i agroturystów (t)	Ilość ziemniaków na sprzedaż (t)	Cena (zł/t)	Wartość sprzedaży
Lord	18	2	16	800	12800
Bellarosa	17	2	15		12000
Tajfun	20	2	18		14400
Jelly	22	2	20		16000
Razem					55200

Źródło: Opracowanie własne.

Znając wartość poszczególnych kosztów i przychodów związanych z uprawą ziemniaków i prowadzeniem działalności agroturystycznej, obliczono przewidywany dochód brutto i netto, jaki osiągnęli właściciele z prowadzenia tej działalności. Największe koszty poniesiono na amortyzację maszyn i ciągników oraz na zakup maszyn a najmniejsze na zakup środków ochrony roślin oraz olejów i smarów. Natomiast największe przychody uzyskano ze sprzedaży ziemniaków. Aby ocenić efektywność produkcji ziemniaków pod względem ekonomicznym, obliczono wskaźnik opłacalności produkcji. Dzięki niemu sprawdzono, ile razy pomnożono środki finansowe, zaangażowane w formie kosztów w proces produkcji ziemniaków (Skarżyńska 2011). Dodatkowym miernikiem opłacalności uprawy była nadwyżka bezpośrednia. Dla lepszego zobrazowania wielkości poszczególnych kosztów i przychodów, obliczono procentowy ich udział w danej grupie kosztów. Zestawienie wpływów i wydatków przedstawiono w tabeli 5.

Tabela 5. Zestawienie kosztów i przychodów uprawy ziemniaka

Lp.	Wyszczególnienie	Wartość (zł)	Udział procentowy (%)
I	Wartość produkcji: - sprzedaż ziemniaków hurtowa - sprzedaż ziemniaków agroturystom	55440,00 55200,00 240,00	100 99,6 0,4
II	Koszty bezpośrednie: - sadzeniaki - nawozy mineralne - środki ochrony roślin	10009,88 8050,00 1290,88 669,00	100 80,4 12,9 6,7
III	Nadwyżka bezpośrednia (I-II)	45430,12	-
IV	Koszty pośrednie: - paliwo - oleje i smary - ubezpieczenie ciągników - podatek rolny - rozrzucanie obornika – usługa - zakup maszyn	13491,05 1126,06 78,82 500,00 276,17 1120,00 10390,00	100 8,3 0,6 3,7 2,0 8,3 77,0
V	Dochód rolniczy brutto (III-IV)	31939,07	-
VI	Amortyzacja maszyn i ciągników	18932,74	-
VII	Dochód rolniczy netto (V-VI)	13006,33	-
VIII	Dotacje: - płatności bezpośrednie - dopłata de minimis do sadzeniaków - zwrot podatku akcyzowego	7093,82 2905,42 4025,00 163,40	100 41,0 56,7 2,3
IX	Dochód netto z dotacjami (VII+VIII)	20100,15	-
X	Dochód z prowadzenia warsztatów	1000,00	-
XI	Dochód netto z dotacjami i warsztatami (IX+X)	21100,15	-
	Wskaźnik opłacalności produkcji, czyli stosunek wartości produkcji do kosztów bezpośrednich (%)	554%	-

Źródło: Opracowanie własne na podstawie projektu.

Rysunek 3. Możliwości wykorzystania ziemniaka w gospodarstwie agroturystycznym






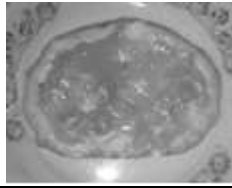


Źródło: Opracowanie własne.

Ziemniak to doskonały materiał na produkt agroturystyczny. Wynika to z szerokiego zakresu możliwości jego wykorzystania. Może być surowcem spożywczym

do przygotowywania różnorodnych dań, potraw i przekąsek. Posadzony w doniczkach będzie służył jako roślina ozdobna. Z bulw ziemniaka można robić pieczątki, figurki oraz wykorzystać go jako przedmiot innych zabaw dla dzieci. Ziemniak jest również szeroko wykorzystywany w medycynie ludowej do leczenia różnorodnych dolegliwości. Ma też zastosowanie w kosmetologii. Sposoby wykorzystania ziemniaka jako produktu agroturystycznego przedstawiono na rysunku 3.

Tabela 6. Przykładowy rozkład dnia w gospodarstwie agroturystycznym w sezonie letnim i zimowym

SEZON LETNI	SEZON ZIMOWY
<p><u>Śniadanie:</u> żurek po krakowsku</p> <p><u>Przepis:</u> do garnka wsypać 4 łyżki razowej mąki żytniej, zalać 2 szklankami letniej przegotowanej wody, przykryć i trzymać w ciepłym miejscu przez 3 dni. Następnie zlać kwaśny płyn. Takim żurem zalać wywar z jarzyn lub suszonych grzybów. Podawać z chlebem lub ziemniakami.</p>	<p><u>Śniadanie:</u> fitka z Lelowic</p> <p><u>Przepis:</u> ziemniaki i marchewkę pokroić w kostkę, pietruszkę przekroić na cztery części, małą cebulkę przypiec w całości. Tak przygotowane składniki włożyć do garnka, zalać zimną wodą i gotować. Pod koniec zupełnie podbić mąką przyrumienioną z łyżką masła i dodać posiekana natkę pietruszki.</p>
<p>Przedobiednie zwiedzanie skansenu oraz dworu obronnego w Szymbarku</p> 	<p>Zwiedzanie zabytków sakralnych w Kobylance (kościół par. pw. Św. Jana Chrzciciela, dzwonnica, kapliczka pw. MB Królowej Polski, cmentarze wojenne Nr 99 i Nr 100 z I wojny światowej)</p>
<p><u>Obiad w formie warsztatów:</u> gałki sadczane</p> <p><u>Przepis:</u> tarte surowe ziemniaki wymieszać z mąką pszenną i wyrobić ciasto. Następnie formować ręcznie niewielkie kulki i gotować je w osolonej wodzie. Po odcedzeniu kluski omaścić przyrumienioną słoniną.</p> 	<p><u>Obiad w formie warsztatów:</u> tarciki</p> <p><u>Przepis:</u> obrane ziemniaki zetrzeć na tarle i odcedzić masę ziemniaczaną od krochmalu. Do startych ziemniaków dodać mąkę, sól, surowe jajko i odcisnięty wcześniej sok. Wyrobić ciasto i formować niewielkie kluski o podłużnym kształcie. Następnie gotować w słonej wodzie. Po odcedzeniu omaścić skwarkami.</p> 
<p>Obserwacja lub udział w pracach polowych</p>	<p>Spacer po okolicy</p>
<p><u>Warsztaty dla dzieci:</u> wykonywanie figurek z ziemniaków, przygotowywanie scenariusza teatryku i jego prezentowanie.</p>	<p><u>Warsztaty dla dzieci:</u> przygotowywanie pieczątek z ziemniaków.</p> 
<p><u>Kolacja:</u> Kolorowe kanapki z warzywami, wędliną i twarogiem własnej produkcji oraz szklanka herbaty z soku z czarnego bzu</p> 	<p><u>Kolacja:</u> Kanapki ze swojskim masłem, miodem lub marmoladą oraz szklanka mleka lub kakao</p> 
<p>Wieczór przy ognisku, degustacja 4 odmian ziemniaka z ogniska, wspólne śpiewanie i słuchanie gry na gitarze. Dla dorosłych degustacja nalewek i win własnej produkcji.</p>	<p>Wieczór przy kominku, degustacja 4 odmian ziemniaków z kociołka i oglądanie przygotowanego przez dzieci teatryku. Dla dorosłych degustacja nalewek i win własnej produkcji.</p>

Źródło: Opracowanie własne.

Właściciele gospodarstwa postanowili wypromować uprawiane w swoim gospodarstwie ziemniaki jadalne, jako unikatowy produkt agroturystyczny. Pierwszym krokiem było nazwanie gospodarstwa jako „Ziemniaczane sioło”. Główną atrakcją dla przyjeżdżających agroturystów, była możliwość uczestnictwa w warsztatach kulinarnych. W czasie ich trwania, właścicielka opowiadała historię ziemniaka oraz jego miejsca w tradycji kulinarnej małopolskich wsi. Wraz z gośćmi, przygotowywano tradycyjne dania i potrawy z Małopolski, znajdujące się na Liście Produktów Tradycyjnych. Dodatkowo dla najmłodszych turystów przewidziano zajęcia plastyczne z wykorzystaniem ziemniaka. Polegały one na wycinaniu pieczętek z bulw ziemniaka, wykonywaniu z bulw różnych figurek, wykorzystując przy tym inne dary natury, jak np. liście, nasiona, patyczki itp. Aby umilić pobyt gościom, wieczorami organizowano ogniska, podczas których można było upiec i skosztować pieczonych ziemniaków. Agroturyści, którzy byli zainteresowani uprawą ziemniaka, mogli wziąć udział lub obserwować jak wykonywane były poszczególne prace gospodarskie.

W tabeli 6 przedstawiono przykładowy rozkład dnia w gospodarstwie agroturystycznym.

Wnioski

Na podstawie przeprowadzonego projektu można wyciągnąć następujące wnioski:

- Uprawa ziemniaków jadalnych metodami zbliżonymi do ekologicznych w gospodarstwie agroturystycznym gminy Gorlice jest opłacalna.
- Istotne znaczenie miał właściwy dobór odmian, co przełożyło się na wysokie plony i obniżenie kosztów związanych z ochroną ziemniaków.
- Zwiększenie liczby agroturystów oraz przychodów związanych z prowadzeniem gospodarstwa agroturystycznego jest możliwe, dzięki podniesieniu atrakcyjności oferty.

Literatura

- Gugała M., Zarzecka K., Sikorska A. 2014. *Porównanie opłacalności produkcji ziemniaka jadalnego w dwóch kolejnych latach uprawy*. RN SERiA, 16(2): 79-81.
- Harasim A., Pszczółkowski P., Sawicka B. 2004. *Możliwość kształtowania efektywności produkcji wczesnego ziemniaka jadalnego poprzez doskonalenie agrotechniki*. Ann. UMCS, Seria E, 59(1): 241-249.
- Korolewicz K. 2013. *Viva la papa! Peru i Boliwia – kolebka ziemniaków*. Ziemniak Polski, 2: 55-57.

- Kodeks Dobrej Praktyki Rolniczej. 2004. Ministerstwo Rolnictwa i Rozwoju Wsi. Ministerstwo Środowiska, Warszawa.
- Lista produktów tradycyjnych. <https://www.gov.pl/web/rolnictwo/lista-produktow-tradycyjnych12/> (data dostępu 8.03.2019 r.).
- Skarżyńska A. 2011. *Skala produkcji rolniczych działalności produkcyjnych a ich opłacalność*. Roczniki Nauk Rolniczych, seria G, 98(1): 7-21.
- Nasiennictwo. www.soleks.pl/nasiona.php?s=2, (data dostępności: 16.02.2019r.).
- Zarzecka K. 2014. *Technologia uprawy ziemniaka w zrównoważonym systemie gospodarowania (praca przeglądowa)*. Biul. Inst. Hodowli i Aklimatyzacji Roślin, 272: 113-127.

Marnowanie żywności wśród mieszkańców Polski Wasting food among Polish residents

Kinga Zarębska
Patrycja Siebierska

Uniwersytet Morski w Gdyni,
Wydział Przedsiębiorczości i Towaroznawstwa
Naukowe Koło Towaroznawstwa „Cargo”
Opiekun: dr inż. Przemysław Dmowski

Abstract

The progressing industrialization has caused significant changes in the sphere of production and consumption. Despite of many positive aspects like for example: increasing the availability of food products or opening up to new markets, we should distinguish the problems such as growing globalization, which can include food waste. Unfortunately, a large part of the population claims that they do not throw away food products, that is why a study was conducted to verify the behavior and attitudes of consumers towards the problem of waste.

The aim of the research was to determine the attitudes, behaviors and knowledge of consumers regarding the problem of food waste. The questionnaire consists of 8 closed, one-time and multiple-choice questions.

The study was conducted on a group of 100 respondents. The results of the study indicated that all subjects had been throwing out food in the past. The second part of the questionnaire asked about the reasons for wasting food, the type and quantity of products most often thrown away and the most harmful effects resulting from this. Respondents usually threw out products due to exceeding their expiry date. Bread, meats and vegetables and fruits were the most often wasted. the most frequently chosen result resulting from food waste was according to the respondents financial (economic) losses.

Keywords: wasting food; consumer behaviour; consumer attitudes.

Wstęp

Problem marnowania żywności ma charakter globalny. Rozpoczyna się już na etapie produkcji, poprzez dystrybucję, aż do konsumpcji. W każdym z tych etapów, istnieją inne przyczyny i uwarunkowania marnotrawstwa. Wyrzucanie żywności ma negatywne skutki społeczne, ekonomiczne i ekologiczne. Produkt spożywczy, zakupiony przez konsumenta, musi najpierw zostać wyprodukowany, opakowany, przetransportowany, co bezpośrednio powiązane jest ze zużyciem energii, itp., a te z kolei z wydatkami finansowymi, ale także z niekorzystnymi skutkami dla środowiska naturalnego (Dąbrowska i Janoś-Kresło 2013). Konsument na każdy zakupiony produkt, musi przeznaczyć określoną kwotę pieniędzy, czas, wykonać wysiłek fizyczny, w celu jego dostarczenia do gospodarstwa domowego i przygotowania odpowiedniego posiłku. Wyrzucanie jedzenia jest zachowaniem, do którego

niechętnie się przyznajemy. Jednak każdemu zdarza się wyrzucić zepsute warzywa czy czerstwe pieczywo. Na świecie marnuje się rocznie 1,3 mld ton żywności. Taka liczba wystarczyłaby na wyżywienie wszystkich mieszkańców Polski przez kilkadziesiąt lat. W krajach Unii Europejskiej marnuje się 88 mln ton żywności. Najwięcej odpadów produkują konsumenci (53%) oraz przetwórcy (19%). Problem marnotrawienia żywności dotyczy również Polski, w której marnotrawione jest około 9 mln ton rocznie, co klasyfikuje Polskę na piątej pozycji państw marnujących żywność w Unii Europejskiej, bezpośrednio za Wielką Brytanią, Niemcami, Francją i Holandią (Banki żywności 2018).

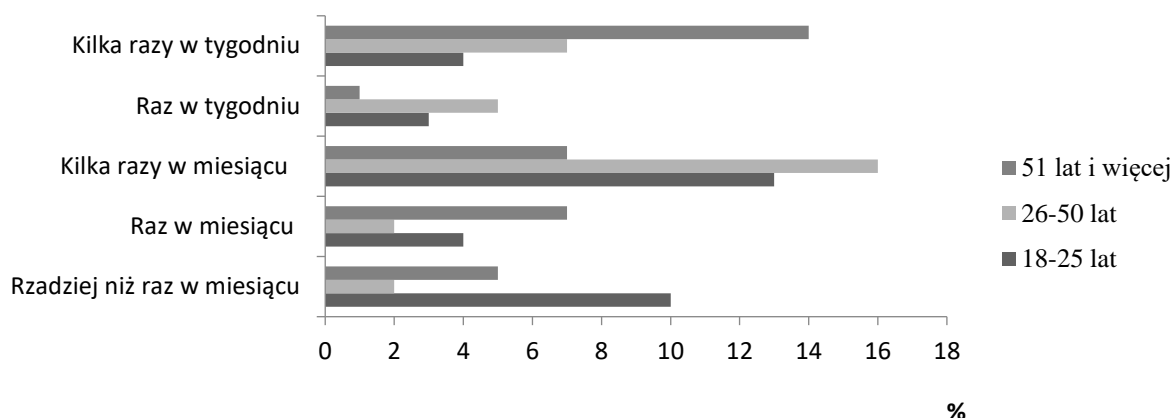
Cel i metoda badań

Celem badań było określenie postaw, zachowań i wiedzy konsumentów wobec problemu marnowania żywności. Badania przeprowadzono wśród 100 respondentów zamieszkujących województwa pomorskie oraz kujawsko-pomorskie w okresie pomiędzy 17, a 31 stycznia 2019 roku. Badanie wykonano z wykorzystaniem kwestionariusza ankiety, który składał się z 8 pytań zamkniętych, jednokrotnego oraz wielokrotnego wyboru. Ankietowani zostali wybrani ze względu na wiek: 18-25 lat (34 osoby), 26-50 lat (32 osoby) oraz 51 lat i więcej (34 osoby) oraz jednocześnie liczbę osób w gospodarstwie domowym: gospodarstwo jednoosobowe (14 osób), gospodarstwo dwuosobowe (20 osób), gospodarstwo trzyosobowe (23 osoby), gospodarstwo czterosobowe (23 osoby), gospodarstwo pięciosobowe (20 osób). Pytania ankietowe dotyczyły: powodów marnowania żywności, rodzaju i liczby produktów najczęściej wyrzucanych oraz najbardziej szkodliwych skutków wynikających z marnotrawienia żywności. Natomiast ostatnie pytania weryfikowały wiedzę i świadomość badanych w zakresie pojęcia „zero waste”, liczby żywności rocznie wyrzucanej w Polsce, a także rodzaju produktów najczęściej marnowanych."

Wyniki badań

Wszyscy ankietowani, niezależnie od wieku czy liczby osób w gospodarstwie domowym zadeklarowali, że zdarzyło im się w przeszłości wyrzucać żywność. Na rysunku 1 i 2 przedstawiono częstość marnowania żywności przez badanych w zależności od wieku oraz liczby osób w gospodarstwie domowym wyrażonych jako udział procentowy. Respondenci spośród dwóch grup wiekowych (18-25 lat, 26-50 lat) najczęściej wyrzucali żywność kilka razy w miesiącu (29%). Najwięcej żywności marnowały osoby starsze (51 lat i więcej), ponieważ dokonywały tego kilka razy w tygodniu (14%).

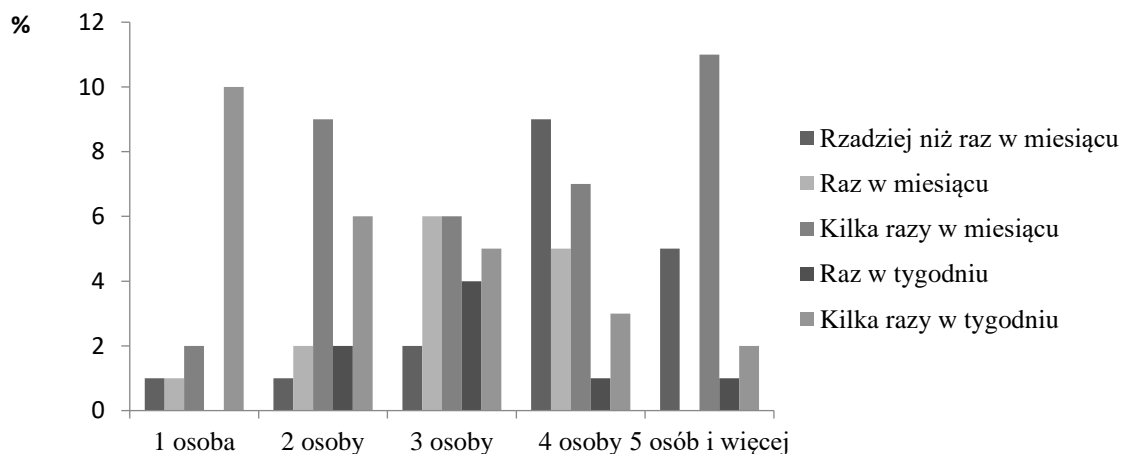
Rysunek 1. Częstość wyrzucanej żywności przez badanych, w zależności od wieku, przedstawiona jako udział procentowy



Źródło: Opracowanie własne.

Najwięcej żywności (kilka razy w tygodniu), spośród badanych marnowały osoby mieszkające same (10%). Kilka razy w miesiącu żywność została wyrzucana w dużych gospodarstwach domowych (5 osób i więcej) – (11%). Najmniej żywności wyrzucały osoby mieszkające w 4 osobowych rodzinach (9%).

Rysunek 2. Częstość wyrzucanej żywności przez ankietowanych, w zależności od liczby osób w gospodarstwie domowym, przedstawiona jako udział procentowy

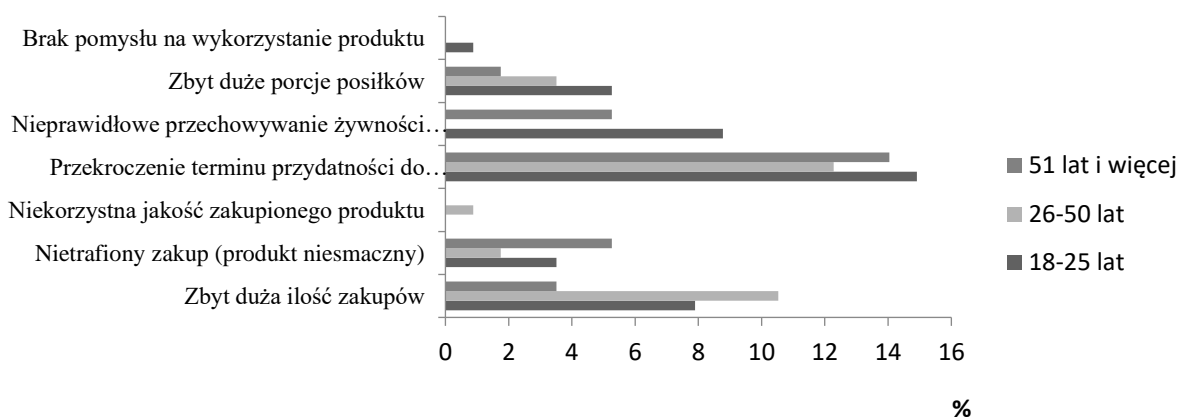


Źródło: Opracowanie własne.

Na rysunku 3 i 4 przedstawiono udział procentowy przyczyn wyrzucania żywności wśród ankietowanych w zależności od wieku oraz liczby osób w gospodarstwie domowym. Wszyscy badani niezależnie od wieku oraz liczby osób w gospodarstwie domowym wskazywali, że powodem wyrzucania przez nich żywności było przekroczenie przez nią

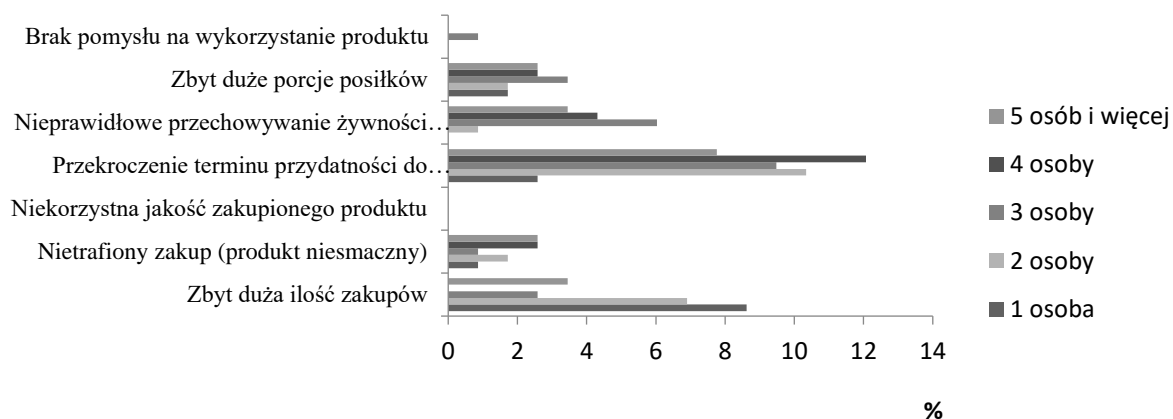
terminu przydatności do spożycia (41,2 %). Istotnym problemem dla respondentów okazała się także zbyt duża liczba zakupionych artykułów spożywczych (21,9%). Znaczna część respondentów, zwracała uwagę na jakość zakupionych produktów, ponieważ była to przyczyna wybierana przez nich najrzadziej (0,9%). Ankietowani nie mieli również problemów z kreatywnością, co do wykorzystania zakupionej żywności (0,9%). Osoby młode (18-25 lat) relatywnie często marnowały żywność ze względu na jej nieprawidłowe przechowywanie (8,7%) czy zbyt duże porcje przygotowywanych posiłków (5,3%).

Rysunek 3. Udział (%) poszczególnych przyczyn wyrzucania żywności wśród ankietowanych w zależności od wieku



Źródło: Opracowanie własne.

Rysunek 4. Udział (%) poszczególnych przyczyn wyrzucania żywności wśród badanych w zależności od liczby osób w gospodarstwie domowym

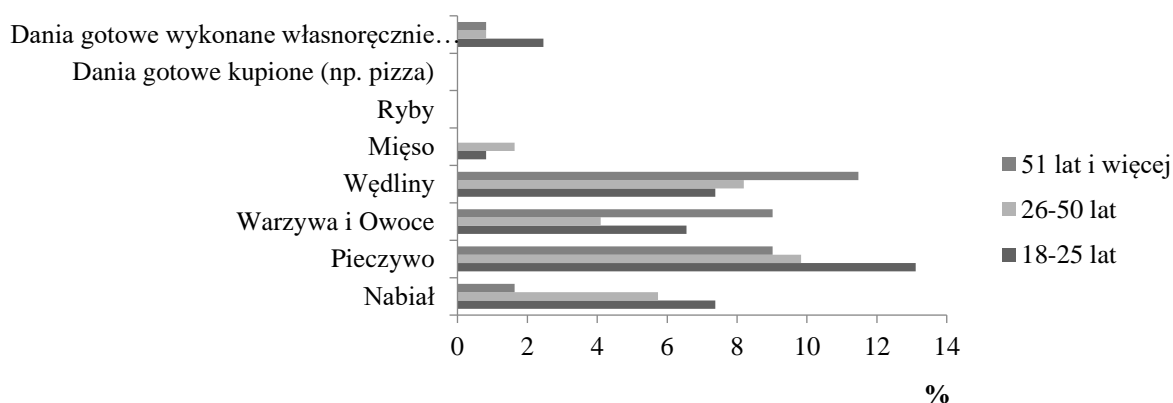


Źródło: Opracowanie własne.

Zbyt duża liczba zakupionych artykułów spożywczych tj. pieczywa, wędlin była najczęstszym powodem wyrzucania żywności przez ankietowanych mieszkających samotnie (8,6%), ale także żyjących w parach (6,9%). Niejednokrotnie wyrzucanie żywności przez

respondentów, spowodowane było przekroczeniem przez nią terminu przydatności do spożycia (42%). Relatywnie często badani, jako przyczynę wyrzucania żywności, wskazywali na nieprawidłowe przechowywanie produktów żywnościowych (14,6%) czy zbyt dużą liczbę zakupów (21,5%). Nieprawidłowe przechowywanie żywności może być problemem trójosobowych gospodarstw domowych i większych, ponieważ wybierali tę przyczynę stosunkowo często (29,3%). Żadna z ankietowanych osób nie wskazała niekorzystnej jakości zakupionej żywności, co może świadczyć o dokładnym analizowaniu przez nich produktów w sklepach. Na rysunku 5 i 6 zaprezentowano procentowy udział produktów najczęściej wyrzucanych przez respondentów w zależności od wieku oraz liczby osób w gospodarstwie domowym.

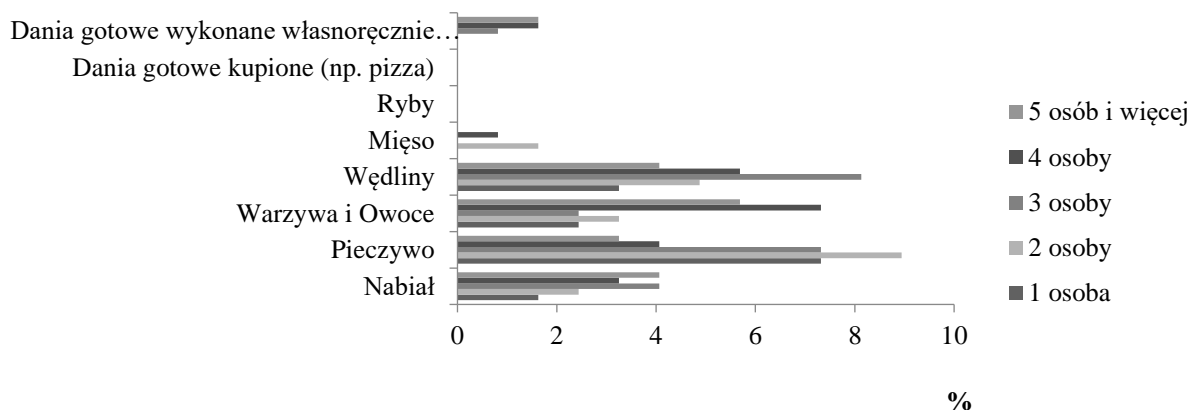
Rysunek 5. Procentowy udział produktów najczęściej wyrzucanych przez badanych w zależności od wieku



Źródło: Opracowanie własne.

Najczęściej wyrzucanym produktem wśród respondentów najmłodszych i ze średniej grupy wiekowej, było pieczywo (22,9%). Produkty te cechują się relatywnie niską ceną oraz łatwą dostępnością, co skutkuje tym, że są kupowane w zbyt dużych ilościach i po kilku dniach wyrzucane ze względu na utratę świeżości. Ankietowani z najstarszej grupy wiekowej zadeklarowali, że najczęściej wyrzucaną przez nich żywnością były wędliny (11,5%). Może mieć to związek z okresem tzw. PRL, gdzie dostępność produktów odzwierzęcych była bardzo ograniczona. Osoby te do dziś kupują wędliny w zwiększonej ilości, będąc w przeświadczeniu, że zabraknie ich w sklepie. Osoby młode (18-25 lat) stosunkowo często marnowały nabiał (7,4%) oraz wędliny (7,4%). Dużym odsetkiem marnotrawienia produktów żywnościowych we wszystkich grupach wiekowych charakteryzowały się warzywa i owoce (19,7%).

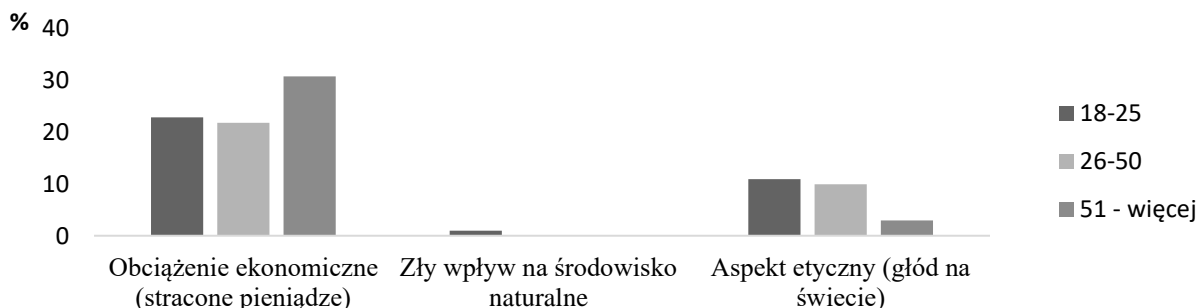
Rysunek 6. Procentowy udział produktów najczęściej marnowanych przez ankietowanych w zależności od liczby osób w gospodarstwie domowym



Źródło: Opracowanie własne.

Najczęściej wyrzucanym produktem wśród badanych było pieczywo (30,9%), następnie wędliny (26%), a także relatywnie często warzywa i owoce (21,1%). Żaden z respondentów nie wskazał na marnowanie dań gotowych kupionych oraz ryb, co może być powiązane z aspektem finansowym. Ryby oraz dania kupione należą do produktów droższych, na które jednorazowo należy przeznaczyć większą kwotę pieniędzy, co skutkuje zwiększonym szacunkiem do tego typu produktów. Dla małych gospodarstw domowych (jednoosobowych i dwuosobowych), największym problemem okazała się być zbyt duża liczba zakupionego pieczywa (16,3%). Z kolei osoby żyjące w większych gospodarstwach domowych, najczęściej wyrzucały wędliny (17,9%).

Rysunek 7. Najbardziej szkodliwe skutki wynikające z marnowania żywności według respondentów w zależności od wieku



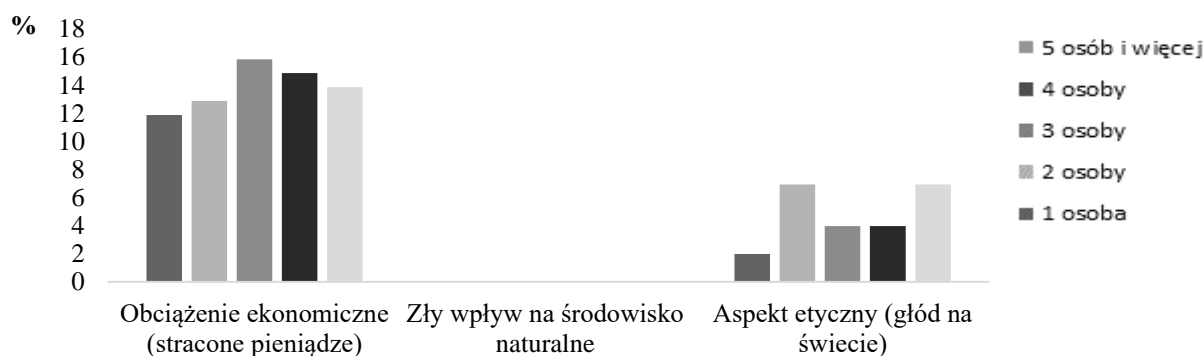
Źródło: Opracowanie własne.

Celem następnego pytania było sprawdzenie świadomości ankietowanych w zakresie skutków wynikających z marnowania żywności. Każda z grup wiekowych w znacznej przewadze wybrała za najbardziej szkodliwy skutek obciążenie ekonomiczne.

Była to najczęściej wybierana odpowiedź przez ankietowanych, stanowiąca 75% wszystkich odpowiedzi. Respondenci w przedziale wiekowym 18 - 25 oraz 26 – 50 brali pod uwagę także aspekt etyczny, jako szkodliwy skutek wynikający z marnowania żywności (rysunek 7). Niepokojący jest fakt, że spośród ankietowanych tylko 1% zwróciło uwagę na zły wpływ marnowania żywności na środowisko naturalne. Badani konsumenci nie mają świadomości, jak poprzez wyrzucanie produktów spożywczych, negatywnie wpływają na środowisko.

Analizując odpowiedzi respondentów, zróżnicowanych pod względem wielkości gospodarstwa domowego (Rysunek 8), uzyskano podobnie jak w klasyfikacji względem wieku, znaczącą przewagę obciążenia ekonomicznego, jako najbardziej szkodliwego skutku marnowania żywności. Ustosunkowało się do tego ponad 69% badanych. Odchylenia względem liczby osób w gospodarstwach domowych nie były znaczące. Nikt z respondentów nie wybrał odpowiedzi „zły wpływ na środowisko naturalne”. Może być to przyczyną niskiej świadomości ludności na problemy globalne wynikające z marnotrawstwa.

Rysunek 8. Najbardziej szkodliwe skutki wynikające z marnowania żywności według respondentów w zależności od liczby osób w gospodarstwie domowym

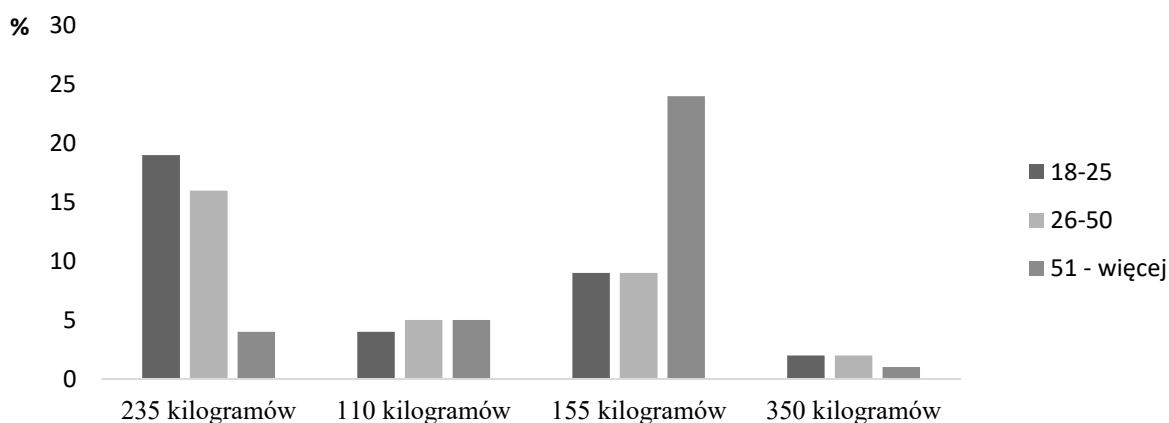


Źródło: Opracowanie własne.

Celem kolejnego pytania było sprawdzenie wiedzy ankietowanych w zakresie marnowania żywności w Polsce. Dotyczyło ono ilości wyrzucanych produktów spożywczych przez przeciętnego Polaka w skali roku. Najstarsza grupa respondentów (51 lat i więcej) najczęściej wybierała odpowiedź 155 kg, natomiast osoby w grupach wiekowych 18-25 i 26-50 zaznaczały odpowiedź 235 kg. Odpowiedzi respondentów przedstawione zostały na rysunku 9. Biorąc pod uwagę statystyki mówiące, że Polak średnio wyrzuca rocznie 235 kilogramów żywności, stwierdzić można, że osoby poniżej 51 roku życia są bardziej świadome, niż starsi respondenci. Odpowiedzi ankietowanych w wieku 51 lat i więcej świadczące o ich nieświadomości, mogły być skutkiem ograniczonego dostępu do stron internetowych,

publikacji naukowych, wiadomości oraz małego zainteresowania tym tematem. Odpowiedzi pozostałych grup badawczych charakteryzują je jako świadome problemu jakim jest wyrzucanie żywności.

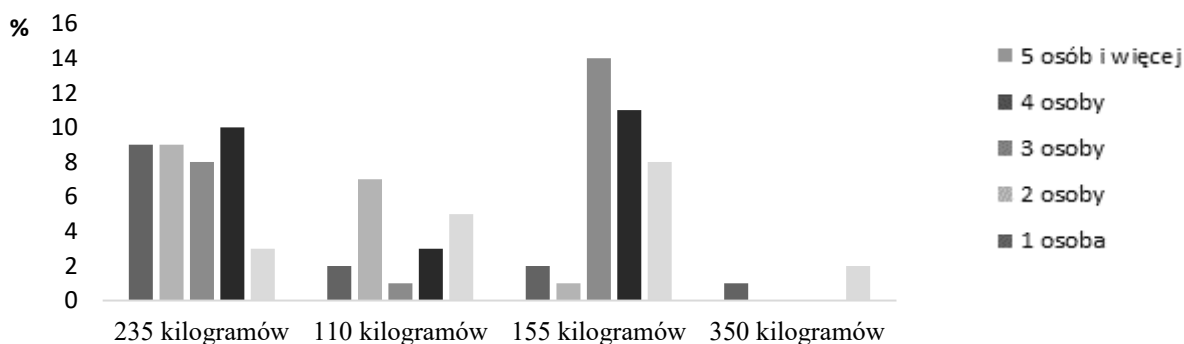
Rysunek 9. Ilość wyrzucanej rocznie żywności przez przeciętnego Polaka według ankietowanych zróżnicowanych względem wieku.



Źródło: opracowanie własne.

Analizując rysunek 10 możemy zaobserwować, iż gospodarstwa 3-, 4 - i 5 - osobowe najczęściej wybierały jako odpowiedź 155 kilogramów, natomiast osoby żyjące samotnie oraz w dwuosobowych rodzinach zaznaczyły poprawną odpowiedź 235 kg marnowanej żywności rocznie.

Rysunek 10. Roczne ilości marnowanej żywności przez Polaków według badanych pogrupowanych według wielkości gospodarstwa domowego

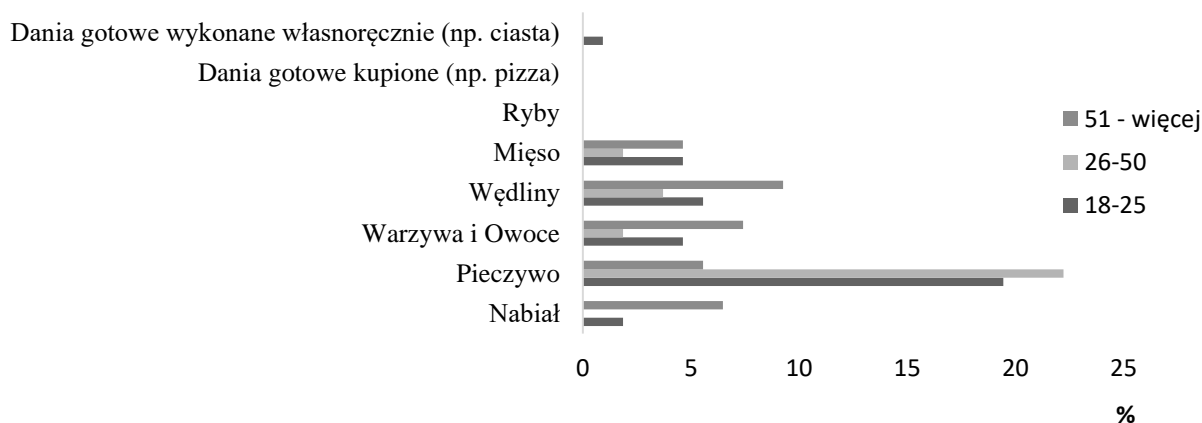


Źródło: Opracowanie własne

W kolejnym pytaniu zapytano o produkt, który według ankietowanych jest najczęściej marnowany przez Polaków w XXI wieku. Według osób w wieku 51 lat i więcej, w największym stopniu marnuje się wędliny (10% odpowiedzi), potem owoce i warzywa, a następnie nabiał

(6,5% odpowiedzi). Pieczywo klasyfikuje się na czwartej pozycji (5,5%). Według pozostałych grup wiekowych, pieczywo zdominowało inne warianty i znajduje się na pierwszym miejscu produktów najczęściej wyrzucanych przez Polaków. Dane te znajdują się na rysunku 11.

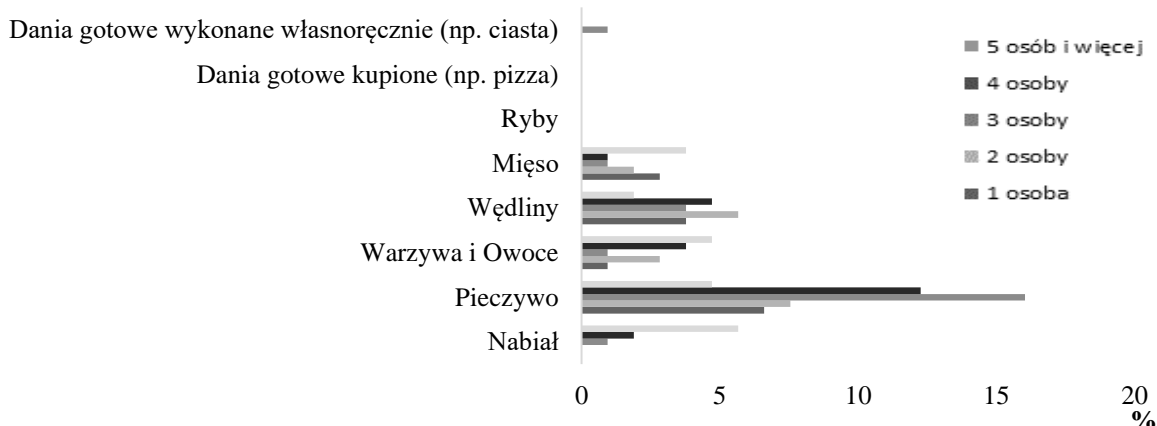
Rysunek 11. Produkty najczęściej marnowane przez Polaków według ankietowanych w zależności od wieku



Źródło: Opracowanie własne.

Badani pogrupowani ze względu na liczbę osób w gospodarstwach domowych, najczęściej wybierali pieczywo (47%). Respondenci wybierali także wędliny (20%), owoce i warzywa (13%) oraz mięso (10%). Nikt z respondentów nie wziął pod uwagę ryb ani dań gotowych typu pizza.

Rysunek 12. Produkty najczęściej marnowane przez Polaków według ankietowanych w zależności od liczby osób w gospodarstwie domowym



Źródło: Opracowanie własne

Ostatnie pytanie dotyczyło znajomości pojęcia *zero waste*. Analizując uzyskane wyniki, niezależnie od wieku oraz ilości osób w gospodarstwach domowych, ponad 69%

ankietowanych zaznaczyło prawidłową odpowiedź, która brzmi „zero odpadów, zero śmieci, zero marnowania”.

Dyskusja

Przyczyną wyrzucania żywności, ze względu na przekroczenie przez nią terminu przydatności do spożycia, może być ogólny problem rozróżniania przez Polaków dwóch różnych określeń „spożyć do” i „najlepiej spożyć przed”. To często sprawia, że wszystko co utraciło datę wskazaną na opakowaniu, zostaje wyrzucone. Produkty spożywcze dzielą się na takie, które szybko tracą trwałość (jogurty, chleb), czyli produkty „spożyć do” i na takie, które po przekroczeniu terminu na opakowaniu „najlepiej spożyć przed” mogą charakteryzować się niższymi walorami organoleptycznymi, ale które mogą zostać jeszcze wykorzystane (makarony, kasze) (Banki żywności 2018). Marnowanie produktów z krótkim terminem przydatności do spożycia wynikać może z częstotliwości oraz ilości kupowanych dóbr. Konsumenci w dzisiejszych czasach mają możliwość robienia zakupów codziennie, praktycznie o każdej porze. Rozwijający się handel doprowadza do ciągłego wzrostu liczby sklepów w Polsce. Są one otwarte od wczesnych godzin porannych do późnych wieczorów, oferując szeroką gamę świeżych produktów.

Szacuje się, że najwięcej żywności wyrzucają osoby młode, wykształcone, mieszkające same w dużych miastach, co ma powiązanie z wysokim tempem życia, brakiem czasu (Lewandowska 2005). O ile marnowanie żywności z powodu utraty zdatności do spożycia jest uzasadnione, tak wyrzucanie dobrych, nieprzeterminowanych produktów ze względu na nadmierny konsumpcjonizm, jest zachowaniem przede wszystkim nieetycznym. Za jedną z przyczyn marnotrawstwa warzyw i owoców można uznać podatność konsumentów na marketingowe działania. Przykładem tego typu zachowań jest obniżanie cen produktów szybko tracących trwałość np. owoców przez duże sklepy co sprawia, że kupowane są one w większych ilościach, niemożliwych do konsumpcji. Z kolei marnowanie wędlin oraz mięsa może być zależne od poziomu życia, który ciągle wzrasta. Komisja Europejska prognozuje, że do 2050 roku podwoi się ilość mięsa spożywanego w Unii Europejskiej (Parlament Europejski 2012). Niepokojący jest fakt, że spośród ankietowanych, tylko 1% zwróciło uwagę na zły wpływ marnowania żywności na środowisko naturalne. Badani konsumenci nie są świadomi, jak poprzez wyrzucanie produktów spożywczych, negatywnie wpływają na środowisko. Badani zauważyli tylko straty finansowe, którymi sami są obciążeni. W dzisiejszych czasach niewielka część społeczeństwa interesuje się problemami związanymi ze środowiskiem naturalnym oraz

problemami etycznymi. Wyrzucając żywność, uszczuplona zostaje energia oraz woda potrzebna do wytworzenia, transportu, przechowywania i dystrybucji żywności. Ponadto, powstające odpady wydzielają szkodliwe dla ludzkości gazy cieplarniane tj. metan (Śmiechowska 2015). Poszerzanie wiedzy społeczeństwa w tym temacie, mogłoby pozytywnie wpłynąć na zmniejszenie ilości marnowanej żywności. Jednym ze sposobów ograniczenia marnotrawstwa żywności jest idea zrównoważonej konsumpcji i produkcji, która polega na korzystaniu z dóbr i usług, co pozwala na zaspokojenie potrzeb przynoszące lepszą jakość życia. Realizacji tych celów, będzie towarzyszyło radykalne obniżanie zużycia zasobów naturalnych i energii, ograniczenie emisji odpadów i zanieczyszczeń środowiska naturalnego oraz zaprzestanie stosowania materiałów toksycznych. Jednocześnie uzyskiwanie lepszej jakości życia przez obecne pokolenia, nie będzie przeszkodą na drodze realizacji zaspokajania potrzeb, przez przyszłe pokolenia (Jastrzębska-Smolaga 2000). Inną inicjatywą wykazały się banki żywności, które w celu poszerzenia wiedzy wprowadziły od 2015 roku warsztaty dla osób starszych oraz uczniów (Ekologia, dostęp 15.02.2019r). W naszym kraju, na rzecz zmiany świadomości populacji dotyczącej zapobiegania powstawaniu odpadów i promowania bezodpadowego stylu życia, działa Polskie Stowarzyszenie Zero Waste, które w celu ograniczania marnowania żywności, kreuje kilka zasad. Należą do nich między innymi: „Zwracaj uwagę na datę ważności spożycia, nie rób zakupów z pustym żołądkiem, uważaj na wielopaki, zrób listę oraz warzywa i owoce kupuj na wagę” (kukbuk dostęp 15.02.2019r). Polacy, zwłaszcza respondenci w wieku 50 lat i więcej nie są świadomi, ile kilogramów rocznie marnuje się żywności. Z przeprowadzonych w 2018 roku badań na potrzeby Federacji Polskich Banków Żywności wynika, że Polacy najczęściej marnują pieczywo (49%), owoce (46%) i wędliny (45%). Kolejne miejsca zajmują ryby (5%), mięso (10%), mleko (12%), nabiał (10%) oraz dania gotowe (9%) (Banki żywności dostęp 15.02.2019r). Należałoby znaleźć rozwiązania, w jaki sposób efektywnie dotrzeć do społeczeństwa, aby poprawić świadomość problemu, jakim jest marnowanie żywności w Polsce.

Podsumowanie

Wszyscy badani, niezależnie od wieku oraz liczby osób w gospodarstwie domowym wskazywali, że powodem wyrzucania przez nich żywności, jest przekroczenie terminu przydatności do spożycia.

Najczęściej marnowanymi produktami przez respondentów było pieczywo, wędliny, warzywa i owoce oraz nabiał. Żywność ta cechuje się krótkim terminem przydatności do

spożycia, która w połączeniu z nadmiernym ich zakupem sprawia, że produkty te jako pierwsze są wyrzucane.

Przeważająca część respondentów, niezależnie od wieku oraz liczby osób w gospodarstwie domowym, za najbardziej szkodliwy skutek marnowania żywności uznawała obciążenie ekonomiczne (straty finansowe).

Respondenci w wieku powyżej 50 lat, w porównaniu do pozostałych ankietowanych, nie byli świadomi problemów związanych z ilością wyrzucanej żywności rocznie przez przeciętnego Polaka.

Niezależnie od wieku oraz ilości osób w gospodarstwie domowym, respondenci wskazywali prawidłową definicję pojęcia *zero waste*.

Literatura

Banki żywności. https://bankizywnosci.pl/wp-content/uploads/2018/10/Przewodnik-do-Raportu_FPBZ_-Nie-marnuj-jedzenia-2018 (dostęp 15 lutego 2019 r).

Dąbrowska A., Janoś-Kresło M. 2013. *Marnowanie żywności jako problem społeczny*. Handel Wew., 4(345): 14-26.

Ekologia. <https://www.ekologia.pl/styl-zycia/zdrowa-zywnosc/nie-rzuczaj-miesem-do-kosza-apeluje-federacja-polskich-bankow-zywnosci,17374.html>(dostęp 15 lutego 2019 r).

Jastrzębska-Smolaga H. 2000. *W kierunku trwałej konsumpcji*. PWN, Warszawa.

Kukbuk. <https://www.kukbuk.pl/wiadomosci/zero-waste-marnujemy-zywnosc> (dostęp 15 lutego 2019 r).

Lewandowska J., 2005. *Upodobania kulinarne, nawyki żywieniowe i zachowania konsumenckie Polaków*. CBOS, BS/173/2005: 2-7.

Rezolucja Parlamentu Europejskiego z dnia 19 stycznia 2012. Jak uniknąć marnotrawienia żywności: strategię na rzecz poprawy wydajności łańcucha żywnościowego w UE. Strasburg. 2011/2175(INI).

Śmiechowska M. 2015. *Zrównoważona konsumpcja, a marnotrawstwo żywności*. 45: 89-97.

Stan mikrobiologiczny serów dojrzewających w ostatnich dniach terminu przydatności do spożycia

Microbiological state of ripened cheese in the final days of shelf-life

Martyna Rychta

Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie
Wydział Nauk o Żywności
Naukowe Koło Technologów Mleczarstwa
Opiekun: prof. dr hab. inż. Bogusław Staniewski

Abstract

The object was checking the microbiological status of ripened cheese on the last day of shelf life, compared to cheeses with about 2-2.5 monthly shelf-life. Examination of the organoleptic characteristics of ripening cheeses, comparison of changes in sensory characteristics during storage.

Cheese microflora is very important in the production and maturing process. The non-sterile microflora present in the finished product (such as yeasts and molds) can cause problems with maintaining quality standards during distribution and storage. Keeping the rules of production hygiene and packaging in the plant significantly affects the microbiological state of the product.

Studies were carried out to compare the microbiological status of ripened cheese sliced, packaged in thermo-formable packaging from hard bottom film, 2-2.5 months before the expiration date declared by the producer, and on the last day of the minimum durability date of the product. Organoleptic tests were also carried out to indicate the difference in sensory characteristics during different storage times.

Studies have shown that the sensory characteristics of cheeses are more intense in the last days of shelf-life. No foreign microflora appeared in the study of the total number of microorganisms.

Keywords: dairy, cheese ripening, gouda cheese

Wstęp

Sery podpuszczkowe dojrzewające, są ważnym elementem diety większości ludzi żyjących w strefie klimatu umiarkowanego. Wyrabiane są zarówno przy użyciu tradycyjnych jak i współczesnych metody. Należą one do szczególnie cennych produktów w diecie człowieka ze względu na wysoką zawartość pełnowartościowego białka o wysokiej wartości biologicznej i soli mineralnych (Pluta 2006).

W porównaniu, do mleka sery dojrzewające odznaczają się wysoką wartością energetyczną. Tłuszcz mleczny zawarty w serach (ok. 20-30%), charakteryzuje się dużą ilością krótkołańcuchowych nasyconych kwasów tłuszczowych i kwasu oleinowego oraz obecnością cholesterolu i naturalnych izomerów *trans*.

Sery dojrzewające można podzielić na:

- Typ szwajcarski - sery o bardzo delikatnym smaku, np. ementaler;
- Typ włoski - twarde i pikantne sery, np. parmezan;
- Typ angielski - sery o kwaskowatym posmaku, dość ostre – cheddar;
- Typ bałkański - łagodny w smaku i zapachu, wytwarzany ze sparzonej masy serowej – mozzarella;
- Typ holenderski - łagodne w smaku sery, delikatnie kwaskowate - gouda, edamski, podlaski, zamojski
- Typ szwajcarsko-holenderski - połączenie dwóch metod produkcji, sery o nieco ostrzejszym smaku np. tyłżycki (Sałacki2011).

Mikroflora serów odgrywa znaczną rolę w produkcji i dojrzewaniu. Bierze udział w biochemicznej konwersji laktozy, białek mleka i tłuszczu oraz w tworzeniu cech smakowo-zapachowych sera.

Skład mikroflory serów można podzielić na dwie grupy;

- mikroflorę starterową (zasadniczą i pomocniczą)
- mikroflorę niestarterową

Główną grupę obu tych grup stanowią bakterie kwasu mlekowego. Do produkcji serów typu szwajcarsko-holenderskiego, stosuje się paciorkowce fermentacji mlekowej; *Lactococcus* spp., *Lauconostoc* spp. oraz pałeczek propionowych *Propionibacterium* spp. Populacja mikroflory starterowej, jest dominująca w początkowym okresie dojrzewania i ulega stopniowej redukcji spowodowanej przez zmieniające się czynniki środowiska w procesie dojrzewania. Mikroflora niestartowa to kompleks bakterii, drożdży i pleśni. Jej skład (zarówno ilościowy jak i jakościowy) zależy od gatunku sera, z jakiego zostały wyizolowane. Jest to jeden z najtrudniej kontrolowanych czynników w zakładzie mleczarskim. Mikroflora niestartowa może powodować wady produktu oraz problemy z utrzymaniem standardów jakościowych (Kołakowski i in. 2013).

W ogólnym kontekście, jakość sera dojrzewającego, może być zdefiniowana jako stopień akceptacji produktu przez konsumenta. Kryteria jakości obejmują różne rodzaje cech:

- Cechy organoleptyczne i sensoryczne (smak, zapach, tekstura i wygląd);
- Cechy fizyczne (np. plastyczność, twardość, sprężystość, tekstura);
- Skład (zawartość białka, tłuszczu, wapnia, laktozy, sodu);

- Cechy chemiczne (wolne kwasy tłuszczowe, bezpieczeństwo produktu, brak ciał obcych).

Sery podpuszczkowe zawierają szczególnie dużą ilość wapnia. Jest to najłatwiej przyswajalny wapń wśród wszystkich produktów żywnościowych. Długotrwałe niedobory wapnia w diecie, mogą prowadzić do np. krzywicy u dzieci, u osób dorosłych powodować kruchość i łamliwość kości. Niewystarczająca ilość tego pierwiastka może powodować także rozwój nadciśnienia tętniczego. Dostarczanie wapnia z pożywieniem (np. 2 szklanki mleka dziennie lub plasterki sera), pozwoli zaspokoić dzienne zapotrzebowanie na ten składnik (Law i in. 2010).

Za wyróżniające się cechy smakowe wielu serów zależą od: metabolizmu tłuszczu, kazeiny, resztkowej laktozy, kwasu cytrynowego i mlekowego przez kulturę starterową i inne dodane mikroorganizmy. Enzymy, takie jak lipazy (które hydrolizują tłuszcz mleczny do kwasów tłuszczowych), są niezbędne do pikantnego smaku niektórych serów. Enzymy te dodaje się do mleka przed produkcją serów.

W zależności od rodzaju sera, pożądane cechy mogą znacząco się różnić. Ocena jakości zależy od mierzalnych kryteriów, które dostarczają informacji o produkcie pod względem mikrostruktury, składu, reologii, właściwości sensorycznych, poziomu akceptacji przez konsumenta. Proces dojrzewania różni się w zależności od rodzaju sera. Zachodzą reakcje chemiczne i enzymatyczne, które powodują rozwój smaku i zapachu zmiany w teksturze i właściwościach fizycznych (stopień, rozciąganie) sera. Temperatura podczas dojrzewania, pH sera, technologia produkcji i dodanie specyficzne enzymy i mikroorganizmy mają wpływ na wyżej wymienione cechy.

Lipoliza tłuszczu mlecznego (triglicerydów) w serze, do wolnych kwasów tłuszczowych (FFAs) przez lipazy, pleśnie i bakterie od dawna ma zastosowanie przy wytwarzaniu serów, szczególnie przy produkcji włoskich serów twardych, np. parmezanu. W produkcji mają udział enzymy pochodzenia zwierzęcego, takie jak lipaza przedżołądkowa cielęca. Inne źródła lipazy, to np. specjalnie wyselekcjonowane do produkcji żywności szczepy *Aspergillus* spp. lub szczepy *Rhizomucor*.

Zastosowanie lipaz w produkcji sera, nie jest jednak skutecznym sposobem na poprawę profilu smakowego produktu. Takie dodatki zwiększają intensywność smaku, ale zwykle kosztem jakości. Sery, które nie mają wyraźnych nut smakowych kwasów tłuszczowych (FA) w swoich profilach, mają mdły i mydlasty posmak, spowodowany przez użycie lipaz, zwłaszcza pochodzenia zwierzęcego, które selektywnie uwalniają krótkołańcuchowe kwasy (masłowy,

kapronowy i kaprynowy) z tłuszczu mleczny. Enzymy tego typu znalazły zastosowanie jako składniki mieszanki enzymatycznej proteinaz i lipaz, które są dobrane w taki sposób, aby uzyskać zrównoważone przyspieszenie przebiegu procesu, z pominięciem tworzenia się nieprzyjemnego smaku (Pluta 2006).

Znaczącą rolę odgrywa dobór materiałów opakowaniowych. Głównym przeznaczeniem opakowania jest ochrona produktu przeznaczonego do spożycia. W przypadku sera dojrzewającego, opakowanie nie powinno wpływać na cechy sensoryczne. Podczas dojrzewania sera, wydzielą się dwutlenek węgla. Jego ilość zależy od konkretnego rodzaju sera. Dwutlenek węgla może pochodzić z bakterii kwasu mlekowego, które wytwarzają CO₂, oraz np. z bakterii kwasu propionowego, przy twardych lub półtwardych odmianach sera. Bardzo ważnym aspektem jest umożliwienie transferu dwutlenku węgla przez materiał opakowaniowy, aby uniknąć wybruszenia opakowania. Opakowanie powinno chronić produkt przed zanieczyszczeniami i zapobiegać wchłanianiu lub uwalnianiu substancji lotnych. Istotne jest również zachowanie odporności mechanicznej na uszkodzenia, aby nie dopuścić do zanieczyszczenia produktu w trakcie transportu i dystrybucji (Law i in. 2010).

Ser gouda podlega Standard Codex Alimentarius, (Codex standard for gouda, 2013, CODEX STAN 266-1966). Standardem objęto wszystkie produkty, przeznaczone do bezpośredniej konsumpcji lub do dalszego przetwarzania, zgodne z definicją sera. Ser jest definiowany jako produkt dojrzewający lub niedojrzewający, miękki, półtwardy, twardy lub bardzo twardy, w którym stosunek białek serwatkowych do kazeiny, nie przekracza poziomu takiego jak w mleku. Produkt ten może być otrzymywany przez koagulację białek mleka pełnego, mleka odtłuszczonego, mleka częściowo odtłuszczonego, śmietanki, śmietanki serwatkowej, maślanki, lub kombinacji tych surowców.

Uwzględnia się zasadę, że rezultatem wyrobu sera jest koncentracja białek mleka. W konsekwencji, zawartość białka w produkowanym serze, jest znacząco wyższa niż w mieszaninie powyższych surowców. Dozwolone są także procesy technologiczne obejmujące koagulację białek mleka, powodujące powstanie podobnego produktu pod względem cech fizycznych, chemicznych oraz organoleptycznych.

Surowcem do produkcji sera mogą być mleko i/lub produkty, które są otrzymywane z mleka. Dozwolone składniki (poza mlekiem i jego produktami) to woda pitna, chlorek sodu, bezpieczne enzymy, kultury starterowe nieszkodliwych bakterii kwasu mlekowego, grupy bakterii wytwarzających aromat danego sera oraz inne nieszkodliwe mikroorganizmy (Codex Alimentarius 2013).

Cel i metoda

Celem pracy jest:

- Sprawdzenie stanu mikrobiologicznego serów dojrzewających w ostatnim dniu przydatności do spożycia, w porównaniu do serów z około 2-2,5 miesięcznym terminem przydatności do spożycia.
- Badanie cech organoleptycznych serów dojrzewających, porównanie zmian cech sensorycznych podczas przechowywania.

Materiał do badań stanowiły sery podpuszczkowe, pełnotłuste, dojrzewające, wyprodukowane i zapakowane w warunkach przemysłowych. Zostały pokrojone i zapakowane w opakowania jednostkowe po 150 g. Sery były przechowywane prawidłowo, z zachowaniem ciągu łańcucha chłodniczego. Każdy z serów analizowano w dwóch próbach: w ostatnim dniu przydatności do spożycia oraz produkt z 2-2,5 miesięcznym terminem ważności spożycia, który stanowił próbę kontrolną dla każdego z zanalizowanych serów. Przeprowadzono badania mikrobiologiczne ogólnej liczby drobnoustrojów przy użyciu podłoża CASO-Agar, Merck - Agar CASO tryptonowo sojowy (TSA) 105458. Czas inkubacji wynosił 48h w temperaturze 37°C.

Tabela 1. Analizowane sery dojrzewające

Analizowane sery dojrzewające	
Ser "Gouda"	Producent A
Ser "Zamojski"	Producent A
Ser "Kasztelan"	Producent B
Ser "Gouda"	Producent D

Źródło: opracowanie własne.

Ze wszystkich 8 próbek przeznaczonych do badań (4 serów w ostatnim dniu daty ważności oraz 4 serów ze średnio 2-2,5 miesięcznym terminem przydatności do spożycia) sporządzono rozcieńczenia 10^1 i 10^2 z płynem fizjologicznym przy użyciu homogenizatora BagMixer. Następnie na każdą z wysuszonych płytek petriego z podłożem CASO naniesiono 100 μ l rozcieńczonego materiału do badań.

Tabela 2. Rozcieńczenia zastosowane do przeprowadzenia badań

Ser Gouda "A" x		Ser Zamojski "A" x		Ser Kasztelan "B" x		Ser Gouda "C" x		Ser Gouda "A"		Ser Zamojski "A"		Ser Kasztelan "B"		Ser Gouda "C"	
1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2

"A" - producent A "B" - producent B "C" - producent C x - sery w ostatnim dniu terminu przydatności do spożycia

Źródło: opracowanie własne

Przeprowadzono również ocenę organoleptyczną dla porównania walorów smakowych serów dojrzewających, wskazania różnic oraz określenia ewentualnych wad powstałych w procesie przechowywania. Badano organoleptycznie obecność zapachów: ostrego, owocowego, maślanego, oborowego, pleśniowego oraz intensywność zapachu. Badając teksturę, brano pod uwagę; uczucie grudek podczas rozdrabniania pokarmu, uczucie lepkości, rozpuszczanie się. Badając smak oceniano: smak słony, smak gorzki, kwaśny aromat, smak świeżego mleka, smak gotowanego mleka, maślany posmak, smak ostry, zjełczały, mydlasty, kwas masłowy (charakterystyczny dla produktów wytwarzanych przez *Clostridium butyricum*), pleśniowy, oborowy oraz intensywność smaku.

Wyniki badań

Wyniki badania ogólnej liczby drobnoustrojów,

Tabela 3. Wyniki badania ogólnej liczby drobnoustrojów

Liczba <i>Lactococcus</i> spp. w produkcie (jtk/g)		
Ser	Długi termin	Ostatni dzień
Gouda "A"	$1,2 \cdot 10^2$	$1,3 \cdot 10^3$
Zamojski "A"	$2 \cdot 10$	$1 \cdot 10^2$
Kasztelan "B"	$1 \cdot 10^5$	$9,6 \cdot 10^5$
Gouda "C"	$8 \cdot 10^5$	$6,4 \cdot 10^6$

Źródło: opracowanie własne

Badania organoleptyczne

Każda z cech organoleptycznych była oceniana w skali 9-stopniowej, gdzie 1 oznaczał brak danej cechy, natomiast 9 oznaczało jej wysoką intensywność. (2-stary)

Tabela 4. Badania organoleptyczne

Ser Cecha	Gouda "A"		Zamojski "A"		Kasztelan "B"		Gouda "C"	
	Długi termin	Ostatni dzień	Długi termin	Ostatni dzień	Długi termin	Ostatni dzień	Długi termin	Ostatni dzień
Ocena wizualna								
Jednolitość koloru	6	6	5	6	7	8	7	8
Ilość oczek	1	1	1	1	2	2	2	3
Wielkość oczek	1	1	1	1	2	2	2	2
Ocena zapachu								
Ostry zapach	1	1	2	4	3	6	4	6
Owocowy zapach	1	2	1	1	1	1	1	6
Maślany zapach	1	1	3	6	6	6	7	6
Oborowy zapach	1	1	3	3	1	1	1	1
Mdły zapach	6	1	1	1	1	1	1	1
Intensywność zapachu	3	6	4	8	3	7	4	7
Ocena tekstury								
Twardość	4	3	4	4	4	4	3	3
Grudkowatość	1	1	6	4	6	2	7	5
Kleistość	7	7	3	3	1	1	2	5
Rozpuszczalność	6	7	2	4	1	6	5	7
Wyczuwalność kryształów	1	1	1	1	1	1	1	1
Ocena smaku								
Słony smak	7	7	7	5	3	3	3	3
Gorzki smak	3	6	6	7	1	6	2	6
Kwaśny smak	3	6	1	3	1	1	1	3
Smak świeżego mleka	1	1	1	1	6	8	1	1
Smak gotowanego mleka	8	6	6	6	1	1	7	3
Maślany smak	7	6	6	6	5	5	8	6
Ostry smak	1	3	4	6	3	7	4	6
Zjełczały smak	1	1	1	1	1	1	1	3
Mydlasty smak	1	1	1	1	1	1	1	1
Kwas masłowy	1	1	1	1	1	2	1	1
Mdły smak	1	1	1	1	1	1	1	1
Oborowy smak	3	1	1	1	1	1	1	1
Intensywność smaku	4	7	7	5	3	7	4	6
Ogólna ocena								
Subiektywna ocena	2	5	4	3	7	8	5	7

Źródło: opracowanie własne

Dyskusja

Stan mikrobiologiczny serów dojrzewających, jest ściśle powiązany z ogólną jakością produktu. Jednym z ważniejszych wyróżników jakości sera dojrzewającego, są jego właściwości sensoryczne. Klient sięgając po konkretny produkt ma pewne wyobrażenie dotyczące jego wyglądu, smaku i zapachu. Aby zyskać jak najwięcej zwolenników naszego produktu, kluczowym jest utrzymanie pożądanых cech organoleptycznych oraz zachowanie powtarzalności względem pojedynczych partii.

Pożądanymi smakami w produkcie, jakim jest ser dojrzewający, są min.; smak świeżego mleka, nuta owocowa, karmelowa, orzechowa, lekko gorzkawy posmak. Niepożądane będą natomiast: smak zjełczałego masła, posmak gotowanego mleka, posmak paszowy.

Podczas dojrzewania sera dochodzi do hydrolizy triglicerydów na skutek działania endo i egzogennych lipaz. Prowadzi to do uwolnienia wolnych kwasów tłuszczowych. Zaawansowany rozkład tłuszczu w serach dojrzewających jest zjawiskiem niepożądanym, ponieważ powoduje kwaśny, zjełczały posmak. Do czynników wpływających na proces lipolizy zaliczamy enzymy bakterii zanieczyszczających mleko surowe (zachowujące swoją aktywność po pasteryzacji) (Żelazowski 2017).

Na początku procesu produkcji serów typu szwajcarskiego i szwajcarsko-holenderskiego, laktoza ulega przekształceniu w kwas mlekowy. Zachodzi to z udziałem kultur starterowych, np.: *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus helveticus* i/lub *Lactobacillus bulgaricus* oraz *Lactococcus lactis* i *Leuconostoc mesenteroides*. W pierwszym etapie dojrzewania, komórki bakterii fermentacji mlekowej ulegają stopniowej lizie, następuje uwolnienie enzymów wewnątrzkomórkowych, które wpływają na dalszy rozkład związków podczas procesu dojrzewania. W drugim etapie, bakterie fermentacji propionowej wytwarzają kwasy organiczne, które wpływają na smak sera. CO₂ powoduje charakterystyczne oczkowanie. Interakcje międzyszczepowe pomiędzy *Lactobacillus* spp. i *Propionibacterium* spp. mają charakter komensalizmu. W drugim etapie dojrzewania przyrost *Propionibacterium* spp. można wyjaśnić wykorzystaniem mleczanów syntetyzowanych przez pałeczki *Lactobacillus* spp. (Mikś-Krajnik 2012).

Przeprowadzając badania organoleptyczne, w większości serów w ostatnim dniu terminu przydatności do spożycia (tj. w serze gouda producenta "A", serze Zamojskim producenta "A" oraz w serze gouda producenta "C"), wyczuwalny był kwaśny smak i zapach. Jest to spowodowane wytwarzaniem kwasów organicznych przez kultury starterowe.

Modyfikując czas i warunki dojrzewania sera, możliwe jest kształtowanie jego cech sensorycznych. Tworzy to nowe możliwości rozwoju branży oraz stwarza możliwości do budowania konkurencyjność marki.

Komercyjne możliwości modyfikacji serów podpuszczkowych poprzez zmianę warunków dojrzewania

Krótszy czas przechowywania w magazynie sera dojrzewającego (dodatek enzymów, wyższa temperatura przechowywania)	Wyższa marża zysku i / lub bardziej konkurencyjne ceny
Monitorowanie i kreowanie cech serów dojrzewających, celowa modyfikacja (enzymy, temperatura)	Dostawa z zapasów, serów o różnej dojrzałości i intensywność smaku (dostosowane pod klienta)
Modyfikacja smaków (enzymy, kultury)	Pozyskanie nowych klientów, zatrzymanie stałych klientów
Nowe składniki żywności o smaku sera (enzymy, kultury)	Dywersyfikacja rynku, penetracja nowych rynków w sektorze spożywczym
Poprawiony smak serów o niskiej zawartości tłuszczu (enzymy, kultury)	Rozwinięcie małego, ale rentownego sektora produktów

Opracowanie na podstawie Law B. A i in., 2010

Podsumowanie

Badane produkty, przetrzymywane w warunkach chłodniczych, hermetycznie zapakowane, były bezpieczne przez cały deklarowany okres przydatności do spożycia, chociaż zauważalne były niewielkie różnice w teksturze. Nie zauważono obecności innych drobnoustrojów, niż charakterystyczna dla produktów mikroflora kultur startowych *Lactobacillus* spp. i nieliczne kolonie mikroflory niestartowej.

Badania mikrobiologiczne ogólnej liczby drobnoustrojów wykazy, że w ostatnim dniu terminu przydatności do spożycia, liczba drobnoustrojów w produkcie jest kilkukrotnie wyższa, niż w produktach z dłuższym terminem przydatności do spożycia.

W składzie sera Zamojskiego producenta "A" obecny był azotan potasu, konserwant, który prawdopodobnie był przyczyną mniej intensywnego wzrostu mikroorganizmów w tych próbach.

Sery dojrzewające z 2-2,5 miesięcznym terminem przydatności do spożycia, posiadały bardziej mleczny smak, natomiast sery w ostatnich dniach terminu były w większości przypadków ostrzejsze, bardziej gorzkie i wyraziste. W żadnej próbie nie wystąpiły smaki takie jak; zjełczały, mydlasty, mdły, które wskazywałyby na wady produktów.

Sery dojrzewające podczas przechowywania stają się bardziej aromatyczne. W ogólnej ocenie organoleptycznej, sery te zostały określone jako bardziej pożądane.

Literatura

- Codex Standard – Ser Gouda, Codex Standard For Gouda*, 2013, Codex Stan 266-1966.
- Law B. A., Tamime A. Y., 2010, *Technology of Cheesemaking Second Edition*, Wiley-Blackwell: 231-255.
- Kołąkowski P., Kowalska M., Sędrowska-Ćwiek J., 2013, *Mikroflora serów dojrzewających*, *Innowacyjne Mleczarstwo*, 1 (I): 6-13.
- Marta H. Miks-Krajnik, 2012, *Rola paciorkowców mlekowych i pałeczek propionowych w procesie dojrzewania sera typu szwajcarsko-holenderskiego*, *ŻYWNOSĆ. Nauka. Technologia. Jakość*, 1 (80): 45-49.
- Pluta A., Berthold A., Kielak J., 2006, *Zmiany wybranych cech fizykochemicznych, reologicznych i sensorycznych w czasie dojrzewania sera typu holenderskiego o różnej zawartości tłuszczu*, *ŻYWNOSĆ. Nauka. Technologia. Jakość*, 2 (47): 255-261.
- Sałacki K., 2011, *Sery podpuszczkowe dojrzewające*, *Przegląd Mleczarski*, 8/2011: 40-41.
- Żelazowski Piotr., *Sery podpuszczkowe dojrzewające typu holenderskiego*, <https://www.researchgate.net/publication/315647055>: 5-17.

Rynek mlecznych produktów bezlaktozowych, a świadomość konsumentów

The market of lactose-free dairy products and consumer awareness

Monika Małkowska,
Dagmara Pogorzelska

Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie
Wydział Nauk o Żywności
Naukowe Koło Technologów Mleczarstwa
Opiekun: prof. dr hab. inż. Bogusław Staniewski

Abstract

The widespread problem of lactose intolerance and the response from manufacturers are good material for research. The article presents an analysis of lactose-free dairy products available in the Olsztyn. The studies also include the level of awareness of the potential consumer. As the analysis shows, buyers are not always guided by health problems, but also by better taste or following the fashion for healthy eating. When researching the market in the lactose-free category, it can be concluded that the widening range of products "in purple" packaging is not synonymous with the expansion of knowledge about them.

Keywords: lactose intolerance, lactose-free products, dairy products

Wstęp

Nietolerancja laktozy, to przypadłość związana z brakiem lub niedoborem laktazy (enzymu rozkładającego cukier mleczny do glukozy i galaktozy) w organizmie człowieka, a dokładniej w jelicie cienkim. Nietolerancja laktozy objawia się biegunką, wzdęciami i bólami brzucha w niewielkim odstępie czasu po zjedzeniu mlecznych produktów (Górska 2017). Aktualne dane dotyczące tego problemu w kraju, kształtują się w granicach 17-34% populacji cierpiącej z powodu nietolerancji cukru mlecznego (Zatwarnicki 2014). W większym stopniu problem ten dotyczy ludności krajów Azji i Afryki. Szacuje się, że w Chinach z powodu nietolerancji laktozy, cierpi 98% społeczeństwa. W Europie, w zależności od kraju i jego regionu, wynosi na przykład: w Dani 6%, w Finlandii 17%, w Niemczech 15%, we Francji a Włoszech nawet do 70% populacji. W najmniejszym stopniu problem ten jest zauważalny w Australii i Nowej Zelandii - jedyne 8-9% społeczeństwa cierpi z powodu nietolerancji laktozy (Górski 2010). Fakt zróżnicowania w występowaniu tej przypadłości, jest związany z pokoleniowym brakiem nawyku do spożywania produktów mlecznych. Jak wynika z badań, człowiek jest w stanie nauczyć organizm pracować, tj. trawić cukier mleczny, nawet jeśli

w organizmie poziom enzymu rozkładającego laktozę (laktazy) jest bardzo niski – wystarczy powoli i systematycznie zwiększać porcje nabiału w swojej diecie (Górska 2017).

Ciągle narastająca grupa ludzi, z brakiem lub niewystarczającą ilością enzymu zdolnego do rozkładu cukru mlecznego, skłoniła producentów do poszerzenia swojego asortymentu o mleczne produkty bezlaktozowe. W prawie unijnym ani krajowym nie ma zapisów regulujących znakowanie produktów bez laktozy. Można zaznaczyć, że opinię na ten temat wydał Główny Inspektor Sanitarny w 2016 roku. Informuje ona o tym, że aby wyrób gotowy uznany był za bezlaktozowy, to maksymalny w nim poziom laktozy, nie może przekroczyć 0,01% (granica wykrywalności przez urządzenia pomiarowe). Jest to jedynie opinia, do której stosowania producenci są zobligowani (<http://www.mleczarstwopolskie.pl/giw.pdf/>).

W ofercie handlowej i portfolio producentów, mleczne produkty bezlaktozowe wyróżniają się, bo pakowane są jak analogiczne klasyczne produkty, ale cechą charakterystyczną jest fioletowy odcień samego opakowania, napis „bez laktozy” lub przekreślona litera „L” (Górska 2018).

Laktozę z produktów mlecznych można oddzielić lub obniżyć jej poziom, przy użyciu trzech różnych technik: enzymatycznej, membranowej oraz przy zastosowaniu chromatografii. Pierwsza technika opiera się na hydrolizie laktozy do cukrów prostych, a stosuje się do tego celu dodatek enzymu, który rozkłada laktozę na glukozę i galaktozę. Dzięki tej metodzie wytwarzania uzyskuje się słodszy smak końcowego produktu (Kowalewska – Piontas i Bednarski 1999). Przy mechanicznym oddzielaniu laktozy, zastosowanie mają techniki membranowe, a dokładniej ultrafiltracja. Podczas tego procesu z mleka usuwane są sole mineralne i laktoza. Stosuje się w tym celu procesy membranowe przez które przenikają wymienione cząsteczki. Dostają się one w ten sposób do permeatu, a retentat, czyli tłuszcz i większość białek stanowią surowiec do wyrobu produktów bezlaktozowych (Dec 2011).

Ostatnią i najnowszą z technik jest chromatografia. Jest ona rzadko stosowana ze względu na wysoki koszt i czasochłonność metody. W tym przypadku, zasadą rozdziału jest przechodzenie cząsteczek laktozy naładowanych elektrycznie przez złożę (fazę rozdzielczą). Zaletą tej techniki jest fakt, że pozbywamy się tylko laktozy, a cenne sole mineralne i wszystkie białka pozostają w mleku (Tossavienen 2008). Jednak zastosowanie tylko jednej z technik, nie zapewni 0.01% poziomu laktozy w mleku. W celu osiągnięcia wymaganej redukcji cukru mlecznego, metody należy ze sobą łączyć.

Cel i metodologia badań

Celem przeprowadzonych badań była analiza olsztyńskiego rynku mlecznych produktów bezlaktozowych oraz jednocześnie zbadanie świadomości konsumentów o tej kategorii produktowej.

Prowadzone badania obejmowały przegląd oferty handlowej olsztyńskich sklepików osiedlowych, dyskontów i supermarketów oraz portfolio internetowego największych producentów w branży mleczarskiej. W celu zbadania świadomości konsumentów, przeprowadzony został sondaż na temat mlecznych produktów bezlaktozowych. Ankieta wykonana w skali mikro, obejmowała 50 respondentów olsztyńskiej społeczności, była anonimowa, zawierała 7 pytań – głównie zamkniętych, jednokrotnego a także wielokrotnego wyboru. Wśród ankietowanych 54% populacji stanowiły kobiety. Badana społeczność mieściła się w przedziale wiekowym: 18-24 lat (32%), 25-30 lat (12%), 31-35 lat (8%) oraz w wieku powyżej 35 lat (48% badanych).

Wyniki oraz dyskusja

W naszym kraju, za jednego z pierwszych producentów mlecznych produktów bezlaktozowych, uznaje się zakład „Maćkowy”, który zaczął wprowadzać swoje wyroby na rynek od 1997 roku. Z biegiem czasu, asortyment mlecznych produktów bezlaktozowych, obecnych na rynku polskim, znacznie się poszerzył i na stałe uplasował się w ofercie handlowej sklepów. Obecnie możemy wyróżnić siedem kategorii produktów bezlaktozowych, a są to: mleko i napoje niefermentowane, napoje fermentowane, masło i produkty wysokotłuszczowe, koncentraty (proszek mleczny, WPC, WPI), twarogi i serki twarogowe, sery dojrzewające oraz lody i desery. Produkty te łatwo odróżnić od pozostałych wyrobów mleczarskich, poprzez ich charakterystyczną fioletową barwę opakowania. Do producentów posiadających największą gamę tych produktów możemy zaliczyć: SM Mlekovitę, Bakomę, OSM Łowicz oraz SM Mlekpól. Uwzględniając rodzaj wyrobów bez laktozy, dopasowano je według klasyfikacji, którą przedstawiono w tabeli 1.

W zależności od wielkości powierzchni i rodzaju placówek handlowych, mleczne wyroby bezlaktozowe ułożone są w różnych kombinacjach. Mogą stanowić oddzielny dział – szczególnie widoczne jest to w supermarketach lub znajdować się tuż obok produktów z tej samej kategorii – takie ułożenie dominuje w większości dyskontów i sklepów osiedlowych.

Tabela 1. Asortyment mlecznych produktów bezlaktozowych głównych krajowych zakładów mleczarskich (podział z uwzględnieniem rodzaju oraz liczby produktów).

L.p	Rodzaj produktu	SM Mlekovita	Bakoma	OSM Łowicz	SM Mlepol
1.	Mleko i napoje niefermentowane	Mleko spożywcze bez laktozy Mleko UHT <i>Łącznie 6 produktów</i>	Brak produktów	Mleko łowickie UHT bez laktozy <i>Łącznie 2 produkty</i>	Mleko Bez laktozy <i>Łącznie 2 produkty</i>
2.	Napoje fermentowane	Jogurt Polski bez laktozy (różne smaki) Jogurt Polski pitny (różne smaki) Jogurt Polski naturalny bez laktozy Śmietana Polska 18% bez laktozy <i>Łącznie 10 produktów</i>	Jogurt smakowy Jogurt naturalny Jogurt naturalny pitny bez laktozy <i>Łącznie 5 produktów</i>	Jogurt naturalny bez laktozy Jogurt grecki light bez laktozy <i>Łącznie 2 produkty</i>	Jogurty pitne <i>Łącznie 3 produkty</i>
3.	Masło i produkty wysoko tłuszczowe	Masło Polskie bez laktozy <i>Łącznie 1 produkt</i>	Brak produktów	Masło ekstra łowickie bez laktozy <i>Łącznie 1 produkt</i>	Brak produktów
4.	Koncentraty mleczne	Mleko w proszku odłuszczone bez laktozy <i>Łącznie 1 produkt</i>	Brak produktów	Brak produktów	Brak produktów
5.	Twarogi i serki twarogowe	Serek homogenizowany Polski naturalny bez laktozy Serek homogenizowany smakowy bez laktozy Twaróg półtłusty bez laktozy, Serek wiejski Polski bez laktozy <i>Łącznie 4 produkty</i>	Brak produktów	Serek łowicki homogenizowany naturalny bez laktozy Serek wiejski łowicki bez laktozy Twaróg łowicki półtłusty bez laktozy <i>Łącznie 4 produkty</i>	Twarogi Twarożki wiejskie bez laktozy <i>Łącznie 4 produkty</i>
6.	Sery dojrzewające	Ser Gouda w plastrach bez laktozy Ser Gouda blok 3,5kg bez laktozy Ser Havarti w plastrach bez laktozy <i>Łącznie 7 produktów</i>	Brak produktów	Brak produktów	Sery dojrzewające bez laktozy <i>Łącznie 3 produkty</i>

„Opracowanie własne.”

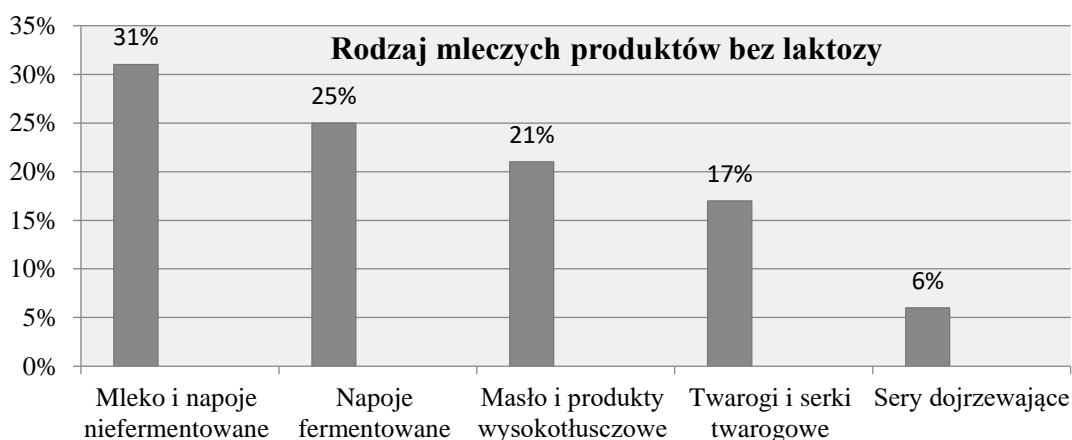
Do analizy wybrane zostały trzy rodzaje obiektów handlowych różnej wielkości, tj. sklepy osiedlowe, dyskonty i supermarkety. Stwierdzono, że w ofercie handlowej małych sklepików osiedlowych, występuje duża różnorodność mlecznych produktów bezlaktozowych, a w ich asortymencie można znaleźć produkty podstawowe, takie jak: mleko, masło, jogurty, a także sery. Wyroby te, znajdują się tuż obok produktów nabiałowych. Zazwyczaj, tego rodzaju sklepy, nie mają wydzielonego miejsca i nie są otoczone

charakterystycznymi hasłami. W sklepach typu dyskont (np. Biedronka, Lidl) stwierdzono większą liczbę mlecznych produktów bezlaktozowych, aniżeli w sklepikach osiedlowych. Wśród nich można wyróżnić wyroby z tej samej kategorii produktowej, w różnych smakach i reprezentujących więcej niż jednego producenta. Asortyment znajduje się na półkach z nabiałem i nie ma wyodrębnionej swojej przestrzeni. Towar ten jest mniej widoczny dla konsumenta, ponieważ mimo charakterystycznej barwy opakowania, trudno jest znaleźć go wśród innych produktów mlecznych zawierających laktozę. Największy wybór, zarówno pod względem liczby, jak i różnorodności mlecznych produktów bezlaktozowych, stwierdzono w supermarketach. W największych obiektach handlowych wyznaczone są dla tych produktów oddzielne miejsca, bardzo dobrze oznaczone, zazwyczaj z napisem „produkty bezlaktozowe” bądź też „lactose free”, hasła reklamowe znajdują się na filetowym tle. Produkty omawianej kategorii w supermarketach, ulokowane są zazwyczaj tuż przy produktach „Eko” czy „Bio”.

Wśród ankietowanych, 42% nigdy nie próbowało mlecznego produktu bez laktozy. Większość uczestników badania – 58% - przynajmniej raz w życiu sięgnęło po taki wyrób, z czego 42% populacji nie spożywa mlecznych produktów bezlaktozowych regularnie, a jedyne 13% ankietowanych konsumuje je codziennie. Pozostali respondenci sięgają po mleczne produkty bezlaktozowe nieregularnie, tj.: 2-3 razy w tygodniu (17% ankietowanych), raz w tygodniu (14% ankietowanych), bądź 2-3 razy w miesiącu (14% ankietowanych). Spośród respondentów regularnie sięgających po tę kategorię produktów (58% populacji) – wyróżnia się osoby: cierpiące na nietolerancję laktozy (10% badanych), podążające za modą (17% badanych) czy ceniące ich lepszy smak (17% badanych). Dla niektórych osób mleczne produkty bezlaktozowe charakteryzują się większą wartością odżywczą, aniżeli mleczne produkty zawierające laktozę – taką odpowiedź deklarowało 21% badanych. Wśród odpowiedzi na pytanie: „Dlaczego spożywasz mleczne produkty bez laktozy?”: 21% respondentów zadeklarowało, że mają one właściwości prozdrowotne a 14%, że cierpi na alergię pokarmową. Z otrzymanych danych wynika, że konsumenci nie do końca zdają sobie sprawę, komu służą produkty bez laktozy i jaki jest ich skład finalny, a także w jakiej mierze różnią się od klasycznych produktów nabiałowych. Duża część ankietowanych przypisuje mlecznym produktom bezlaktozowym właściwości, które nie powinny być z nimi utożsamiane, tj. większa wartość odżywcza, aniżeli klasyczne mleczne wyroby, czy też właściwości prozdrowotne.

Odpowiedzi ankietowanych na pytanie: „*Jaki rodzaj mlecznych produktów bezlaktozowych najczęściej spożywasz?*” przedstawiono na rysunku 1. Analizując go można stwierdzić, że uczestnicy badania najczęściej sięgają po produkty bezlaktozowe z rodzaju mlecznych napojów niefermentowanych (31% respondentów), nieznacznie rzadziej po mleczne napoje fermentowane (25% respondentów) oraz masło i produkty wysokotłuszczowe (21% respondentów). Twarogi i serki twarogowe, a także sery dojrzewające, są najmniej popularne wśród tej grupy produktów.

Rysunek 1. Odpowiedzi ankietowanych na pytanie: „*Jaki rodzaj mlecznych produktów bezlaktozowych spożywasz najczęściej?*”



Źródło: Opracowanie własne.

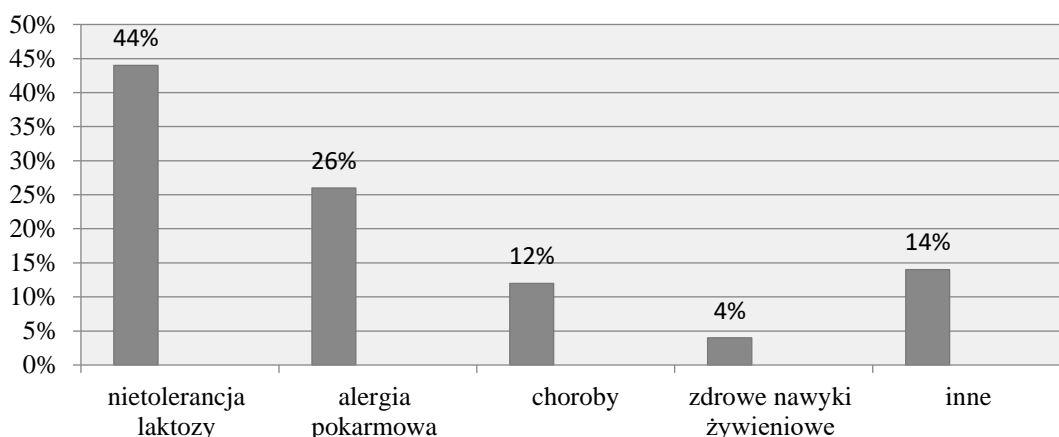
W ankiecie zamieszczono także pytanie o firmę, która najbardziej kojarzy się z mlecznymi produktami bezlaktozowymi. Wśród respondentów, którzy nigdy nie konsumowali takich produktów, aż 73% z nich jako firmę tożsamą z tymi wyrobami, wskazało SM Mlekovitę. Również ankietowani regularnie spożywający mleczne produkty bezlaktozowe deklarują, że to produkty SM Mlekovity widzą najczęściej w ofercie handlowej sklepów, rzadziej produkty firmy Bacoma (23% badanych), a w dużej mniejszości inne, tj. SM Mlekoop, OSM Łowicz, OSM Piątnica (19% badanych).

Spośród ankietowanych 74% biorących udział w sondażu zaznaczyło, że mleczne produkty bezlaktozowe są łatwo dostępne w ich okolicy, natomiast 24% respondentów nie orientuje się na temat ich dostępności.

W ankiecie znalazło się jedno pytanie otwarte: „*Jak sądzisz, dla kogo dedykowane są mleczne produkty bezlaktozowe?*”. Odpowiedzi na nie zestawiono na rysunku 2. Z danych wynika, że 44% ankietowanych deklaruje, że wie do kogo dedykowane są mleczne produkty bezlaktozowe – do osób z nietolerancją laktozy. Duża część badanych wskazuje na alergię

pokarmową (26% respondentów), kilkanaście osób (12% respondentów) wskazało na ogólną grupę – „ludzie chorzy”, a część z badanych (4% respondentów) uznaje, że mleczne produkty bezlaktozowe dedykowane są osobom dbającym o zdrowe nawyki żywieniowe. Wśród udzielanych odpowiedzi, pojawiały się także stwierdzenia: „dla dzieci”, „dla osób w podeszłym wieku”, „dla poszukujących nowych smaków”, „dla osób z problemami żołądkowymi”, czy „dla koneserów”.

Rysunek 2. Najczęściej udzielane odpowiedzi na pytanie: „Jak sadzisz, dla kogo dedykowane są mleczne produkty bezlaktozowe?”



Źródło: Opracowanie własne.

Podsumowanie

Problem z trawieniem i przyswajaniem cukru mlecznego, deklaruje coraz większe grono osób, a są to już nie tylko osoby starsze, u których jest to zjawisko normalne, związane ze „zużywaniem się” organizmu postępującym wraz z wiekiem (Jeżewska 2018). Jak pokazują badania, na schorzenie cierpią osoby w wieku produkcyjnym a dzieci i osoby z genetycznym uwarunkowaniem schorzenia, są jedynie odsetkiem wśród osób nietolerujących cukru mlecznego. U takich osób, przyczyną nietolerancji laktozy, może być coraz częstsza rezygnacja ze spożywania produktów mlecznych (Górska 2016). Na ogólnoswiatowy problem, odpowiadają producenci oferując wszelkiego rodzaju produkty bez laktozy.

Stwierdzenia końcowe:

Konsumenci z chęcią spożywają produkty bez laktozy – 58% respondentów przynajmniej raz w życiu sięgnęło po ten produkt będąc w sklepie – przy czym częściej z innych pobudek, niż nietolerancja cukru mlecznego, a przede wszystkim z uwagi na chęć zdrowego odżywiania, przekonanie o właściwościach prozdrowotnych czy lepszy smak.

Większość respondentów (66% uczestników badania) korzysta z mlecznych produktów bez laktozy mylnie twierdząc, że mają one właściwości prozdrowotne.

Sklepy, wychodząc naprzeciw oczekiwaniom konsumentów, bardzo dobrze uzupełniają olsztyński rynek o mleczne produkty bez laktozy. Także producenci mają w swoim portfolio duży wybór takich produktów, we wszystkich kategoriach mleczarskich, przez co ich dostępność stwierdza się zarówno w małych, jak i dużych sklepach.

Z przeprowadzonego badania świadomości konsumentów wynika, że zbyt mało jest dostarczonych informacji o tym, do kogo kierowane są mleczne produkty bez laktozy. Producenci powinni poprzez reklamę nie tylko promować swój wyrób, ale także dokształcać społeczeństwo na temat tej kategorii produktowej, ich przeznaczenia, właściwości oraz składu.

Narastające zainteresowanie produktami bezlaktozowymi, szczególnie wśród osób zdrowych, może przyczynić się do późniejszych problemów z przyswajaniem cukru mlecznego, a tym samym produktów zawierających laktozę. Jeśli organizmowi zdrowemu nie dostarczy się odpowiedniej dawki nabiału, to w późniejszych latach może to skutkować nabyciem wtórnej nietolerancji laktozy.

Literatura

- Dec B. 2011. *Technologia produkcji nisko- i bezlaktozowych produktów mleczarskich*. Przegląd Mleczarski. 5: 8-14.
- Górski J. 2010. *Na bakier z laktozą*. Forum Mleczarskie Biznes. 5: 8-10.
- Górska J. 2016. *Kiedy laktoza stanowi problem*. Forum Mleczarskie Handel. 6: 43-44.
- Górska J. 2017. *Produkty bezlaktozowe: Wzrost bez laktozy*. Forum mleczarskie Handel. 5: 84-85.
- Górska J. 2018. *W koszyku nietolerujących*. Forum mleczarskie Handel. 12: 38-43.
- Jeżewska A. 2018. *Mleko i produkty mleczne w żywieniu ludzi w starszym wieku*. Przegląd mleczarski. 12: 48-50.
- Kowalewska-Piontas J., Bednarski W., 1999. *Technologiczne oraz żywieniowe aspekty enzymatycznej hydrolizy laktozy*. Żywność. 4(21): 54-62.
- KZSM. <http://www.mleczarstwopolskie.pl/giw.pdf/> (dostęp 20 luty 2019 r.).
- Tossavainen O., Kallionen H. 2007. *Effect of lactose hydrolysis on furosine formation in skim milk during pasteurization*. Milchwissenschaft. 62 (2): 188-191.
- Zatwarnicki P. 2014. *Nietolerancja laktozy – przyczyny, objawy, diagnostyka*. Prace poglądowe. 4, (3): 273-276.

Rozdział III

Technologiczne uwarunkowania bezpieczeństwa żywności w Polsce

Ocena wpływu metod produkcji wybranych produktów na bazie jabłek na ich jakość

An assessment of the impact of the production methods of selected apple-based products on their quality

Łukasz Biernaciak
Katarzyna Rychcik

Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie
Wydział Nauk o Żywności
Studenckie Koło Naukowe Higieny Żywności i Toksykologii
Opiekun: dr n. wet. inż. Magdalena Polak-Śliwińska

Abstract

The aim of the work was to compare the quality of NFC juices made from apples from organic and conventional production in terms of the presence of patulin and 5-HMF. The test material consisted of 18 apple juices purchased at retail stores in Olsztyn. The research included 9 NFC juices from conventional production and 9 NFC juices from organic production.

The content of patulin and 5-HMF was determined by reversed phase high-performance liquid chromatography (RP-HPLC-DAD). On the basis of the conducted tests, it was found that the content of patulin and 5-HMF in the analysed juices varied. The concentration of patulin in conventional juices ranged from 5.65 to 29.24 $\mu\text{g}/\text{dm}^3$. The lower level of mycotoxin was found in juices from organic production, in which it ranged from 1.78 to 4.68 $\mu\text{g}/\text{dm}^3$. The content of 5-HMF in conventional juices varied from 2.31 to 14.15 $\mu\text{g}/\text{dm}^3$. In organic juices it ranged from 1.05 to 2.55 $\mu\text{g}/\text{dm}^3$. Based on the obtained results, it was found that organic juices are characterized by better quality.

Keywords: juice, apple, patulin, 5-HMF, organic

Wstęp

Owocami spożywanymi w Polsce w największych ilościach, są jabłka. Ich popularność związana jest z dużą dostępnością na rynku oraz mnogością odmian. Jabłka spożywane są zarówno w postaci surowej, jak i przetworzonej. Są cennym źródłem witamin, błonnika, kwercetyny i składników mineralnych, takich jak: potas, magnez i żelazo. Zawarte w jabłkach flawonoidy, poprzez silne działanie przeciwutleniające, mogą zmniejszać ryzyko wystąpienia i rozwoju nowotworów. Kwercetyna wpływa np. na obniżenie ciśnienia krwi oraz zmniejszenie ryzyka demencji starczej (Zdrojewicz i in. 2015).

W ostatnich latach, w Polsce i w Europie, obserwuje się spadek konsumpcji soków tradycyjnych, tzw. odtworzonych. Ich miejsce zajmują soki produkowane nie z koncentratów owocowych, określane jako soki NFC (not from concentrate). Soki NFC uzyskiwane

są w procesie tłoczenia, najczęściej na prasach taśmowych, poddawane sedymentacji lub dekantacji, pasteryzowane i pakowane w opakowania szklane, kartonowe lub typu PET (Trojanowicz 2015). Podczas produkcji tych soków, nie stosuje się procesów enzymatycznej obróbki miazgi, klarowania i filtracji, które powodują zmniejszenie ilości pektyn, witaminy C oraz polifenoli w sokach tradycyjnych (Turek i in. 2016). Soki NFC są dużo lepszym źródłem witamin, składników mineralnych, błonnika, antocyjanów, flawonoidów i innych polifenoli, niż soki odtworzone. Przyczyną rosnącej popularności soków NFC, jest wzrost świadomości żywieniowej konsumentów, popularność zdrowego stylu życia oraz szeroka oferta sieci handlowych (Trojanowicz 2015).

Szczególną grupę, wśród soków NFC, stanowią soki wyprodukowane z owoców pochodzących z produkcji ekologicznej. Zainteresowanie uprawami ekologicznymi związane jest z dbałością o środowisko i zdrowie człowieka. Produkty ekologiczne zawierają mniej substancji toksycznych, takich jak pozostałości pestycydów, a jednocześnie charakteryzują się wyższą wartością odżywczą niż płody konwencjonalne (Adamczyk i in. 2006, Rembiałkowska i in. 2006). Jabłka z uprawy ekologicznej charakteryzują się wyższą zawartością witaminy C, flawonoli i antocyjanów (Rembiałkowska i in. 2004). Również przetwory otrzymane z jabłek ekologicznych, zawierają więcej polifenoli i charakteryzują się silniejszymi właściwościami przeciwutleniającymi (Rembiałkowska i in. 2006).

Celem pracy było porównanie soków NFC wyprodukowanych z jabłek pochodzących z upraw ekologicznych oraz konwencjonalnych pod względem występowania patuliny i 5-HMF.

Materiał i metodyka badań

Badany materiał stanowiło 18 soków jabłkowych, zakupionych w sklepach detalicznych na terenie Olsztyna. Badania obejmowały 9 soków NFC z produkcji konwencjonalnej oraz 9 soków NFC z produkcji ekologicznej. Charakterystykę materiału do badań zamieszczono w tabeli 1.

Jakość badanych soków porównano poprzez pomiar kwasowości czynnej przy pomocy pH-metru, analizę zawartości patuliny i 5-HMF poprzez zastosowanie metody HPLC.

Pomiar kwasowości czynnej wykonano poprzez zanurzenie elektrody pH-metru w próbce badanego soku. Wynik odczytywano z ekranu urządzenia. Pomiarów wykonano w dwóch równoległych powtórzeniach.

Tabela 1. Zestawienie badanych produktów

Rodzaj produktu	Numer produktu	Produkt
Soki konwencjonalne	1	Vital FRESH
	2	TYMBARK
	3	Solevita
	4	Hortex
	5	Owoc Łącki
	6	Galicja
	7	Kaufland
	8	FRUXI FRESH
	9	Sok tłoczony TESCO
Soki ekologiczne	1	Tłocznia Maurera
	2	Owocowe smaki
	3	Dary natury
	4	EkoWital
	5	Kamionna
	6	Polska Róża
	7	Sady Wincenta
	8	Wzgórza Sandomierskie
	9	BioVivio

Źródło: Opracowanie własne.

W celu oznaczenia zawartości patuliny i 5-HMF, odmierzano 5 cm³ badanego soku do cylindra miarowego o pojemności 50 cm³ (1). Do cylindra dodawano 10 cm³ octanu etylu i wytrząsano przez 1 minutę. Zawartość cylindra pozostawiano do rozdzielenia się warstw. Górną frakcję odpipetowywano do wcześniej przygotowanego cylindra o pojemności 50 cm³ (2). Do pozostałej zawartości cylindra (1) ponownie wprowadzano 10 cm³ octanu etylu, wytrząsano przez 1 minutę, pozostawiano do rozdzielenia się warstw i odpipetowywano do cylindra (2). Czynność powtarzano trzykrotnie. Następnie do cylindra (2) dodawano 2 cm³ 1,5% węgla sodu i wytrząsano 1 minutę. Cylinder (2) pozostawiano do rozdzielenia warstw. Górną frakcję sączono przez 2 g bezwodnego siarczanu sodu. Do przesączu dodawano 10 cm³ octanu etylu, rozpuszczalnik odparowywano na wyparce próżniowej w temperaturze 60°C i dosuszano N₂. Otrzymane próbki analizowano metodą wysokosprawnej chromatografii cieczowej w układzie faz odwróconych (RP-HPLC-DAD) przy zastosowaniu kolumny analitycznej Phenomenex[®] Synergy 4u Hydro – RP 80A, 250 × 4,6 mm z prekolumną Phenomenex[®] Security Guard Cartiges AQ C18 4 × 3,0 mm oraz fazy ruchomej: acetonitryl – woda (4:96, v/v).

Wyniki i dyskusja

Kwasowość czynna (pH) wyraża ilość zdysocjowanych jonów wodorowych, znajdujących się w roztworze, tj. soku. Kwasowość czynna soków konwencjonalnych wynosiła średnio 3,40. Soki z produkcji ekologicznej charakteryzowały się wyższą wartością pH, która wynosiła średnio 3,69. Kwasowość produktów konwencjonalnych była mało zróżnicowana i kształtowała się w przedziale od 3,26 w soku nr 6 do 3,54 w soku nr 8. Stwierdzono, że kwasowość czynna soków ekologicznych była bardziej zróżnicowana. Najniższym pH cechował się sok nr 1 (pH 3,35), a najwyższym – sok nr 7 (pH 4,12).

5-HMF, czyli 5-hydroksymetylofurfural, jest związkiem powstającym podczas działania temperatury na produkt, np. podczas pasteryzacji. Analiza ilościowa tego związku jest kluczowa przy porównywaniu jakości soków. Produkty konwencjonalne wykazały zróżnicowaną zawartość 5-HMF. W grupie soków konwencjonalnych, najniższą zawartością 5-HMF charakteryzował się sok nr 5, który zawierał 2,31 $\mu\text{g}/\text{dm}^3$ tego związku.

Tabela 2. Kwasowość czynna badanych produktów

	Numer produktu	pH
Soki konwencjonalne	1	3,48
	2	3,44
	3	3,41
	4	3,34
	5	3,32
	6	3,26
	7	3,44
	8	3,54
	9	3,53
Soki ekologiczne	1	3,35
	2	4,11
	3	4,10
	4	3,55
	5	3,48
	6	3,52
	7	4,12
	8	3,47
	9	3,53

Źródło: Opracowanie własne.

Największą ilość 5-HMF stwierdzono w soku nr 3, w którym wynosiła ona 14,15 $\mu\text{g}/\text{dm}^3$. Zawartość HMF w sokach pochodzących z marketów na terenie Turcji, badanych przez Akkaya i Karatas (2016), była mniej zróżnicowana i kształtowała się w przedziale od 1,77 do 7,73 $\mu\text{g}/\text{dm}^3$. Znacznie niższe zawartości 5-HMF w sokach komercyjnych

stwierdziła Polak-Śliwińska i in. (2013). Udział 5-HMF w sokach badanych przez autorów wynosił od 0,27 do 0,33 $\mu\text{g}/\text{dm}^3$.

Na takie zróżnicowanie wyników mogło mieć wpływ wiele czynników, od samych metod produkcji soków i zastosowanych parametrów, po warunki oraz czas magazynowania gotowych produktów.

Objęte badaniem soki ekologiczne zawierały znacznie mniej 5-HMF, niż soki z produkcji konwencjonalnej. Najmniejszą zawartość 5-HMF stwierdzono w ekologicznym soku nr 1 i wynosiła ona 1,05 $\mu\text{g}/\text{dm}^3$. Największym udziałem 5-HMF w tej grupie soków charakteryzował się sok nr 5, który zawierał 2,55 $\mu\text{g}/\text{dm}^3$ tego związku. Soki z produkcji ekologicznej, badane przez Polak-Śliwińską i in. (2013), 8 zawierały od 0,09 do 0,26 $\mu\text{g}/\text{dm}^3$ 5-HMF. Na zawartość HMF w sokach mogły wpłynąć rozwiązania techniczne i technologiczne podczas utrwalania soków, a także warunki przechowywania gotowych produktów.

Patulina jest metabolitem wtórnym wytwarzanym przez pleśnie z rodzaju *Aspergillus* i *Penicillium*. Wywiera niekorzystny wpływ na zdrowie człowieka i może być przyczyną wielu przewlekłych chorób. Istotnym źródłem patuliny w diecie człowieka są jabłka i produkty z jabłek (Pokrzywa i in. 2007). Zawartość patuliny w sokach jabłkowych jest wskaźnikiem ich jakości, który informuje o wartości surowca użytego do produkcji oraz o jakości gotowego wyrobu. Zawartość patuliny w objętych badaniem sokach konwencjonalnych, była bardzo zróżnicowana. Kształtowała się w przedziale od 5,65 $\mu\text{g}/\text{dm}^3$ w soku nr 5, do 29,24 $\mu\text{g}/\text{dm}^3$ w soku nr 8. Soki konwencjonalne badane przez Polak-Śliwińską i in. (2013,) zawierały od 0,87 do 11,79 μg patuliny/ dm^3 . Z kolei w przypadku jabłkowych soków konwencjonalnych, badanych w Hiszpanii przez Piqué i in. (2013), obecność patuliny stwierdzono tylko w 7 z 25 badanych produktów. Maksymalna zawartość patuliny w sokach badanych przez tych autorów wynosiła 13,2 $\mu\text{g}/\text{dm}^3$.

Zawartość patuliny w analizowanych sokach z produkcji ekologicznej była niższa, niż w sokach z produkcji konwencjonalnej. Najniższe stężenie patuliny oznaczono w soku nr 2, a najwyższe w soku nr 5. Wynosiło ono odpowiednio 1,78 i 4,68 $\mu\text{g}/\text{dm}^3$. Niższą zawartość patuliny w sokach ekologicznych stwierdziła Polak-Śliwińska i in. (2013). Poziom patuliny w badanych sokach mieścił się w przedziale od 0,21 do 1,74 $\mu\text{g}/\text{dm}^3$. Znacznie wyższą zawartość patuliny stwierdzili Piqué i in. (2013) w jabłkowych sokach ekologicznych zakupionych w Katalonii. Poddali oni badaniu 22 produkty, a obecność patuliny stwierdzili w 14 z nich. Maksymalne stężenie patuliny w analizowanych przez nich sokach ekologicznych wynosiło aż 36,5 $\mu\text{g}/\text{dm}^3$ soku.

W żadnym z objętych badaniem soków, nie stwierdzono przekroczenia dopuszczalnego limitu określonego dla patuliny, który według najnowszych przepisów wynosi 50 µg/kg (Postupolski i in. 2003).

Na podstawie analizy zawartości patuliny i 5-HMF stwierdzono, że metoda produkcji soków jabłkowych, wywiera wpływ na jakość gotowych produktów. Wyraźnie niższa zawartość patuliny oraz 5-HMF w sokach jabłkowych z produkcji ekologicznej, świadczy o znacznie wyższej jakości tych soków. Ze względu na niekorzystne dla zdrowia działanie patuliny i 5-HMF w ludzkim organizmie, dąży się do zminimalizowania ich zawartości w produktach spożywczych.

Tabela 3. Zawartość patuliny i 5-HMF w badanych sokach

Soki konwencjonalne			Soki ekologiczne		
Numer produktu	Zawartość patuliny [µg/dm ³]	Zawartość HMF [µg/dm ³]	Numer produktu	Zawartość patuliny [µg/dm ³]	Zawartość HMF [µg/dm ³]
1	7,55±0,25	3,46±0,34	1	2,51±0,11	1,05±0,01
2	8,52±0,50	9,21±0,55	2	1,78±0,15	1,08±0,02
3	7,63±0,11	14,15±1,18	3	2,66±0,20	1,45±0,02
4	17,21±1,10	5,05±0,12	4	2,84±0,17	1,78±0,06
5	5,65±0,20	2,31±0,15	5	4,68±0,55	2,55±0,01
6	15,74±1,24	9,25±0,23	6	3,11±0,21	1,91±0,22
7	10,52±0,25	5,94±0,52	7	2,85±0,11	1,10±0,04
8	29,24±1,40	7,86±0,21	8	2,67±0,15	1,55±0,01
9	17,32±1,65	3,77±0,14	9	3,21±0,32	1,10±0,02
Wartość min.	5,65	2,31	Wartość min.	1,78	1,05
Wartość max.	29,24	14,15	Wartość max.	4,68	2,55

Źródło: Opracowanie własne.

Niższa zawartość patuliny w sokach z produkcji ekologicznej, wynikać może z różnic w uprawie jabłek oraz sposobie przechowywania i przetwarzania. Na zawartość 5-HMF w sokach, mogły wpłynąć rozwiązania techniczne i technologiczne podczas utrwalania soków a także warunki przechowywania gotowych produktów.

Podsumowanie

Analizując uzyskane wyniki można stwierdzić, że soki jabłkowe z produkcji ekologicznej, charakteryzują się wyższą jakością, a ich spożycie jest bezpieczniejsze

dla zdrowia. Podczas codziennych zakupów, świadomy konsument, powinien zwracać uwagę na metodę produkcji wybieranych soków.

Literatura

- Adamczyk M., Rembiałkowska E., Wasiak-Zys G. 2006. *Porównanie jakości sensorycznej jabłek z produkcji ekologicznej i konwencjonalnej oraz po przechowywaniu*, Żywność. Nauka. Technologia. Jakość., 2(47) Supl.: 11-19.
- Akkaya D., Karatas S. 2016. *Determination of Hydroxymethylfurfural contents of some apple juice on the market by HPLC method*, International Journal of Food Engineering Research, 2: 19-27.
- Piqué E., Vargas-Murga L., Gómez-Catalán J., de Lapuente J., Llobet J. M. 2013. *Occurrence of patulin in organic and conventional apple-based food marketed in Catalonia and exposure assessment*, Food and Chemical Toxicology, 60: 199–204.
- Polak-Śliwińska M., Łamejko Ł., Kubiak M. 2013. *Zawartość patuliny i 5-HMF w sokach owocowo-warzywnych z produkcji ekologicznej i komercyjnej*, Bromatologia i Chemia Toksykologiczna, 46: 80-88.
- Pokrzywa P., Cieślik E., Topolska K. 2007. *Ocena zawartości mikotoksyn w wybranych produktach spożywczych*. Żywność. Nauka. Technologia. Jakość, 3 (52): 139-146.
- Postupolski J., Rybińska K., Kurpińska-Jaworska J., Ledzion E., Szczęśna M., Karłowski K. 2003. *Nowe przepisy Unii Europejskiej w zakresie patuliny*, Roczniki PZH, 54, (4): 355-361.
- Rembiałkowska E., Adamczyk M., Hallmann E. 2004. *Porównanie wybranych cech wartości odżywczej jabłek z produkcji ekologicznej i konwencjonalnej*, Bromatologia i Chemia Toksykologiczna, 37: 201-207.
- Rembiałkowska E., Hallmann E., Adamczyk M., Lipowski J., Jasińska U., Owczarek L. 2006. *Wpływ procesów technologicznych na zawartość polifenoli ogółem oraz na potencjał przeciwutleniający przetworów (soku i kremogenu) uzyskanych z jabłek pochodzących z produkcji ekologicznej i konwencjonalnej*. Żywność. Nauka. Technologia. Jakość., 1(46) Supl.: 121-126.
- Trojanowicz P. 2015. *Dynamiczny rozwój rynków soków NFC w Polsce*, Przemysł Fermentacyjny i Owocowo-Warzywny, 7-8: 59-65.
- Turek K., Słupski J., Tabaszewska M., Skoczylas Ł., Tomf-Sarna A., Skoczeń-Słupska R. 2016. *Soki jabłkowe naturalnie mętne – produkty bogate w związki biologicznie czynne w: Rola procesów technologicznych w kształtowaniu jakości żywności*, Polskie Towarzystwo Technologów Żywności, Kraków: 127-134.
- Zdrojewicz Z., Cabała K., Pypno D., Bugaj B. 2015. *Jedz jabłka – będziesz zdrowszy*. Medycyna Rodzinna, 3(18): 131-136.

Wpływ dodatku mąki konopnej na jakość chleba pszennego Influence of hemp flour addition on wheat bread quality

Marcin Merchel

Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie
Wydział Nauki o Żywności
Studenckie Koło Naukowe Technologów Przetwórstwa Surowców Roślinnych
Opiekun: dr hab. inż. Małgorzata Tańska, prof. UWM

Abstract

The aim of the study was to present the influence of hemp flour addition on the quality parameters of wheat bread. The bread was prepared using the direct (single-phase) method according to the Institute of Bakery in Berlin. The bread was organoleptically evaluated by a five-point method. During the test, the following features were determined: shape and appearance, crust thickness, taste and smell of the crust, color and appearance of the crumb, taste and smell of the crumb. Five types of bread with 10-50% hemp flour in total flour content were tested. A control bread was also carried out. Additionally, nutritional value of the hemp flour was compared to nutritional value of the wheat flour.

The results shown that hemp flour addition has influence on bread yield and organoleptic properties. The respondents suggested that the maximum addition of hemp flour while maintaining the highest taste and aesthetic values is 20%. It was stated that bread with the addition of hemp flour may increase the satiety index due to the high content of protein and fiber.

Keywords: hemp, hemp flour, bread, organoleptic properties, yield

Wstęp

Kreowanie nowych trendów przez firmy oraz chęć klientów do spożywania produktów z ekologicznych upraw oraz żywności funkcjonalnej, wymusza na producentach żywności wprowadzanie coraz to nowszych i atrakcyjniejszych produktów żywieniowych. W ostatnich latach na rynku pojawiły się m.in. produkty z udziałem nasion lub mąki konopnej. W Rejestrze Krajowym COBORU znajduje się osiem odmian konopi włóknistych (Beniko, Białobrzeskie, Glyana, Henola, Rajan, Tygra, Wielkopolskie i Wojko), z których mogą być wytwarzane produkty, takie jak mąka konopna. Są to konopie jednopienne, typowo włókniste, czyli zawierające mniej niż 0,2% substancji psychoaktywnych (THC), o okresie wegetacji przystosowanym do krajowych warunków klimatyczno – glebowych ([wikipedia.org/wiki/Konopie_siewne](https://pl.wikipedia.org/wiki/Konopie_siewne)).

W polskich wykopaliskach konopie były już znajdowane w czasach wczesnopiastowskich, a niektóre wskazują na występowanie tego gatunku w podokresie przedpiastowskim (choć dane na ten temat jest mało). Najstarsze na naszym terenie

kopalne owocki konopi, zostały opisane przez Moldenhawera (1959), a znalezione były w Nowej Hucie i pochodziły z okresu rzymskiego.

Dostępna na rynku mąka konopna, jest produkowana ze zmielonych i poddanych ekstrakcji nasion konopi siewnej. Nie posiada w swoim składzie glutenu, dlatego ciasto z niej powstałe, charakteryzuje się większą lepkością. Zawiera sporo białka dobrej jakości oraz sporo składników mineralnych (ekogram.pl/pl/blog/16_3-legalne-produkty-z-konopi). Wśród swoich koneserów cieszy się wysoką użytecznością i jest stosowana jako dodatek (np. do jogurtów, twarożków, jako zagęszczacz sosów) oraz główny składnik potrawy (np. chleb, naleśniki). Delikatny, orzechowy aromat, nadaje walorów smakowych wielu daniom, a zawartość błonnika i innych składników sprawia, że potrawy z niej preparowane są odżywcze i pełnowartościowe. W dostępnej literaturze jest jeszcze mało badań na temat zastosowania mąki konopnej w wypieku chleba.

Cel pracy

Celem pracy było przedstawienie wpływu mąki konopnej na cechy jakościowe chleba, w tym atrakcyjność pod względem cech sensorycznych.

Material i metody badań

Do wypieku chleba została użyta handlowa mąka pszenna typu 500 oraz mąka konopna wyprodukowana przez firmę NAT Sp. z o.o. Chleb otrzymano metodą bezpośrednią (jednofazową), według metody opracowanej w Instytucie Piekarstwa w Berlinie. Przed przystąpieniem do przygotowania chleba, oznaczono wilgotność i wodochłonność obu mąk w celu ustalenia odpowiedniej ilości wody w recepturze i wydajności ciasta. Wilgotność mąk oznaczono przy użyciu suszarki. W tym celu odważono po ok. 5 g mąki do naczynek wagowych i przeprowadzono suszenie w temperaturze 130°C przez jedną godzinę. Po tym czasie, naczynka z mąką ostudzono i zważono. Na podstawie mas mąk przed i po suszeniu, obliczono ich wilgotność. Wodochłonność mąk oznaczono przy użyciu wirówki. W tym celu do probówek wirowniczych odważono po ok. 1 g mąki, a następnie dodano 20 ml wody o temperaturze pokojowej. Po dokładnym wymieszaniu mieszaninę odwirowano przez 10 min przy prędkości obrotowej 10000 obr./min. Po odwirowaniu zlano wodę z nad osadu i osad pozostawiono na 5 min do odcieknięcia. Po tym czasie osad zważono i obliczono, ile wody zostało zaabsorbowane przez mąki.

Odmierzono odpowiednią ilość mąki i wody potrzebne do uzyskania ciasta o ustalonej wydajności. Odmierzono dodatek drożdży (3% w stosunku do ilości mąki o wilgotności o 15%)

i przygotowano zawiesinę wodną (woda została pobrana z całkowitej ilości wody potrzebnej do wyrobienia ciasta). Został również odmierzony dodatek soli (1% w stosunku do ilości mąki o wilgotności 15%) i przygotowany wodny roztwór (wodę pobrano z całkowitej ilości wody potrzebnej do wyrobienia ciasta). Ciasto było zagniatane ręcznie ok. 5 min. Proces fermentacji ciasta prowadzono w temperaturze 32°C (temperatura komory fermentacyjnej) przez 60 minut, z przebicciem po 30 minutach, przy wilgotności względnej powietrza w komorze fermentacyjnej wynoszącej 75-80%. Kolejno dzielono ciasto na kęsy o masie 100 g. Przygotowane kęsy zostały poddane fermentacji końcowej w foremce, do momentu uzyskania pełnego wyrośnięcia ciasta. Czas fermentacji końcowej ciasta, do uzyskania jego pełnej dojrzałości wynosił, w zależności od udziału mąki konopnej, 25-40 minut. Wypiek pieczywa był prowadzony w piecu elektrycznym, w temperaturze 200°C, przez 15-20 min. Zostało wykonane pięć wariantów chleba, w których udział mąki konopnej (w odniesieniu do masy obu mąk) był na poziomie 10, 20, 30, 40 i 50%. Przygotowano również próbkę kontrolną, do której nie wprowadzono mąki konopnej. Otrzymane chleby pozostawiono na 24 godziny w temperaturze pokojowej w celu wystudzenia.

Chleby oceniono organoleptycznie metodą pięciopunktową, w której 1 punkt oznaczał ocenę najniższą, a 5 punktów ocenę najwyższą. Była to ocena konsumencka, w której brało udział dziewiętnaście osób w wieku 21-30 lat. Ocenę organoleptyczną przeprowadzono w temperaturze pokojowej, przy naturalnym oświetleniu słonecznym. Podczas badania ocenione zostały takie cechy chleba jak: kształt i wygląd zewnętrzny, grubość skórki, smak i zapach skórki, barwa i wygląd oraz smak i zapach miękkiszu.

Ponadto zostały ocenione takie parametry technologiczne, jak: strata wypiekowa całkowita (różnica między masą uformowanego kęsa ciasta a masą pieczywa ostudzonego, wyrażona w procentach w stosunku do masy ciasta uformowanego do wypieku), wydajność ciasta (ilość ciasta otrzymana ze 100 części wagowych mąki o wilgotności 15%) i pieczywa (ilość pieczywa otrzymana ze 100 części wagowych mąki wilgotności 15%)

Wyniki badań

Wyniki oceny organoleptycznej chleba pszennego, z różnymi dodatkami mąki konopnej, zostały umieszczone w tabeli 1. Analizując oceny przyznane przez ankietowanych stwierdzono, że kształt i wygląd zewnętrzny wypieku kontrolnego z 10% dodatkiem mąki konopnej, był najlepszy. Noty przyznane za te cechy chlebom z dodatkiem mąki konopnej na poziomie 20, 30, 40 i 50% zmniejszały się średnio o 0,5 punktu na każde 10% dodatku tej mąki. Grubość skórki chlebów z dodatkiem 10 i 20%, zdaniem oceniających znacząco nie odbiegała

w porównaniu do chleba kontrolnego i była oceniona na bardzo dobrym poziomie. Oceny za wygląd skórki ulegały zmniejszeniu, kiedy udział mąki konopnej w uzyskanym chlebie był większy (30% - 4,00 pkt.; 40% - 3,53pkt.). Chleb z 50% dodatkiem mąki konopnej, cechował się najcieńszą skórką i ankietowani przyznali za tą cechę tylko 2,84 pkt. Charakterystyczny zapach mąki konopnej w skórce był wyczuwalny przez ankietowanych już przy dodatku mąki konopnej na poziomie 10%, ale nie był on ich zdaniem powodem, przez który chleb byłby zdyskwalifikowany do spożycia. Smak i zapach skórki chlebów z dodatkiem 20, 30 i 40% był określony jako dobry (odpowiednio: 3,74 pkt., 3,42 pkt. i 3,16 pkt.). Z kolei atrakcyjność aromatyczna i smakowa chleba, z dodatkiem 50% mąki konopnej, była niska (2,63 pkt.). Barwa i wygląd mięksiszu, z 10% dodatkiem mąki konopnej, była zauważalna i oceniona przez uczestników jako charakterystyczna i przypominająca chleb graham. Chleby z dodatkiem 20 i 30%, były ocenione jako atrakcyjne (odpowiednio 4,00 i 3,63 pkt.), ale nie tak bardzo jak chleb kontrolny (4,84 pkt.) i ten z dodatkiem 10% mąki konopnej (4,42 pkt.). Chleb z mąką konopną na poziomie 40 i 50%, był bardzo ciemny i mało atrakcyjny dla ankietowanych. W przypadku smaku i zapach mięksiszu, odnotowano podobny regres wraz ze wzrostem dodatku mąki konopnej, tak jak w ocenie smaku i zapachu skórki. Wypiek z 10% dodatkiem mąki konopnej charakteryzował się atrakcyjnym aromatem i smakiem (4,47 pkt.). Chleby z dodatkiem 20 i 30%, miały znacząco wyczuwalne walory sensoryczne mąki konopnej. Wypieki 40 i 50% charakteryzowały się silnym aromatem, a przez niektórych ankietowanych określone były jako „odpychające”. Wyniki ocen zebrane od uczestników świadczą o wysokiej atrakcyjności chleba z dodatkiem mąki konopnej na poziomie 10% oraz stopniowym regresie walorów sensorycznych chleba z dodatkiem większym niż 20%. Najczęstsza uwaga, jaka pojawiała się wśród ankietowanych, to nasilająca się piaszczysta konsystencja oraz gorzki smak chleba wraz ze zwiększaniem się udziału mąki konopnej.

Tabela 1. Średnie wyniki oceny organoleptycznej chleba pszennego z dodatkami mąki konopnej na poziomie 10-50% w skali pięciopunktowej

Wyróżnik jakości	0%	10%	20%	30%	40%	50%
Kształt i wygląd zewnętrzny	4,79	4,74	4,47	4,00	3,53	3,05
Grubość skórki	4,84	4,68	4,42	4,00	3,53	2,84
Smak i zapach skórki	4,79	4,37	3,74	3,42	3,16	2,63
Barwa i wygląd mięksiszu	4,84	4,42	4,00	3,63	3,26	2,95
Smak i zapach mięksiszu	4,74	4,47	3,79	3,47	2,74	2,16

Źródło: Opracowanie własne.

W tabeli 2 zostały przedstawione wyniki dotyczące straty wypiekowej całkowitej chleba pszennego z różnym dodatkiem mąki konopnej. W przypadku tej cechy, nie odnotowano znaczących różnic pomiędzy otrzymanymi wariantami chleba. Takie wyniki świadczą o tym, że prowadzenie ciasta i wypiek chleba ze wszystkich rodzajów mieszanek, był prowadzony w tych samych warunkach.

Tabela 2. Strata wypiekowa całkowita chleba pszennego z różnym dodatkiem mąki konopnej

Dodatek mąki konopnej [%]	Średnia	Odchylenie standardowe
0	20,68	0,59
10	19,17	0,31
20	19,57	1,57
30	20,07	1,49
40	22,88	1,29
50	21,53	0,48

Źródło: Opracowanie własne.

W tabeli 3 zostały umieszczone wyniki wydajności ciasta i pieczywa pszennego bez i z dodatkiem mąki konopnej. Na podstawie tych wyników stwierdzono, że wszystkie uzyskane wartości wydajności ciasta były wyższe niż założona (160%). Najniższą wykazał chleb kontrolny (161,57%). Jak wynika z wartości podanych w tabeli 3, ciasto z dodatkiem mąki na poziomie 10% miało większą wydajność ciasta od próby kontrolnej o 0,52 punktu procentowego (p.p.), 20% o 1,77 p.p., 30% o 3,71 p.p., 40% o 9,26 p.p. i 50% odnotowało wzrost o 12 p.p.

Tabela 3. Wydajność ciasta i pieczywa pszennego z różnym dodatkiem mąki konopnej

Dodatek mąki konopnej [%]	Wydajność ciasta	Wydajność pieczywa
0	161,57	128,16
10	162,09	131,02
20	163,34	131,38
30	165,28	132,09
40	170,83	131,74
50	173,57	136,26

Źródło: Opracowanie własne.

Wynika z tego, że im w masie na chleb był większy udział mąki konopnej, tym wydajność ciasta zwiększała się. Taka sama zależność była widoczna również w przypadku wydajności pieczywa. Próba kontrolna miała najniższą wydajność pieczywa (128,16%), a najwyższą chleb z 50% dodatkiem mąki konopnej (136,26%).

Wynika z tego, że im większy udział mąki konopnej w masie, tym więcej wody uległo wchłonięciu i związaniu przez ciasto w procesie pieczenia. Prawdopodobnie wpływ na to miała większa zawartość tłuszczu w mące konopnej w porównaniu do mąki pszennej (Burczyk 2016).

Według danych zamieszczonych na opakowaniu mąki konopnej wynika, że mąka ta charakteryzuje się wysoką zawartością błonnika (49 g/100 g produktu) oraz prawie trzykrotnie większą zawartością białka (29,9 g/100 g produktu) niż mąka pszenna (10,6 g/100 g produktu) użyta do wypieku. Wysoka podaż błonnika i białka oraz niższa wartość energetyczna w porównaniu do mąki pszennej, może mieć znaczący wpływ na wzrost indeksu sytości chlebów z dodatkiem mąki konopnej, ponieważ obecność tych składników w żywności ma największy wpływ na wartość tej cechy (Galiński i in. 2011, Skotnicka i Ociecek 2016). Ta właściwość chleba, z dodatkiem mąki konopnej, może zostać wykorzystana przez piekarzy przy projektowaniu pieczywa o przeznaczeniu dietetycznym a w czasach, w których otyłość, nadwaga, miażdżyca oraz cukrzyca typu 2 jest szczególnie problematyczna, może okazać się to bardzo przydatne. Mąka konopna również zawiera sześciokrotnie więcej tłuszczu (8,1 g/100 g produktu) niż mąka pszenna (1,3 g / 100 g produktu). Wynika to z faktu, iż nasiona konopi zawierają wysoką podaż tłuszczu (około 28%) (Burczyk 2016), a proces ekstrakcji tłuszczu z nasion nie ma 100% wydajności. Z kolei mąka pszenna użyta do wypieku, zawiera prawie dwanaście razy więcej węglowodanów (70,8 g/100 g produktu) niż mąka konopna (6,1 g/100 g produktu).

W badaniach Apostol i in. (2015) wykazano, że częściowo odtłuszczona mąka konopna, jest bogatym źródłem składników odżywczych, głównie błonnika, nienasyconych kwasów tłuszczowych i składników mineralnych. Cytowani autorzy badali również właściwości reologiczne ciasta (mąka z pszenicy zwyczajnej i mieszanki mąki pszennej z częściowo odtłuszczoną mąką z nasion konopi). Na podstawie tych badań stwierdzili, że próbki z dodatkiem częściowo odtłuszczonej mąki konopnej na poziomie 5 i 10%, utrzymywały właściwości reologiczne w granicach, które mogłyby zapewnić dobre parametry technologiczne w celu uzyskania dobrej jakości produktów piekarskich. Również po przeprowadzeniu próbnego wypieku, najlepsze cechy sensoryczne i fizykochemiczne uzyskali dla chlebów z 5 i 15% dodatkiem częściowo odtłuszczonej mąki z nasion konopi, które były porównywalne z chlebem pszennym. Natomiast jakość chleba, uzyskanego z mieszanek z udziałem 15 i 20% mąki konopnej, była podobna do chleba pełnoziarnistego. Autorzy stwierdzili, że dla polepszenia jakości chleba otrzymywanego z mieszanek mąk z 15 i 20% dodatkiem mąki konopnej, konieczne jest zmodyfikowanie tradycyjnej

technologii, co poprawiłoby zarówno tworzenie i zatrzymywanie gazów, jak i elastyczność chleba.

Tabela 4. Średnia wartość odżywcza w 100 g mąki konopnej i mąki pszennej użytych do badań

rodzaj mąki	mąka konopna	mąka pszenna typ 500
wartość odżywcza		
wartość energetyczna	1253 kJ / 303 kcal	1450 kJ / 342 kcal
tłuszcz	8,1 g	1,3 g
węglowodany	6,1 g	70,8 g
błonnik	49 g	-
białko	29,9 g	10,6 g

Źródło: Opracowanie własne.

Inne opracowania również potwierdzają wyniki prezentowanych w niniejszej pracy badań, wskazując optymalny dodatek mąki konopnej wynoszący 10-15% względem zwykłej mąki (ekogram.pl/pl/blog/16_3-legalne-produkty-z-konopi).

Russo i Reggiani (2013) w swoim badaniu na mące konopnej przeznaczonej na paszę dla zwierząt, zaobserwowali obecność kwasu fitynowego na poziomie 6-7%. Jest to wysoka zawartość, w porównaniu do stężenia tego składnika w soi (2%). Ilość skondensowanych tanin wahała się od 1,36 do 2,14 g/kg odtłuszczonej mąki. Poziomy te nie są jednak toksyczne. Badacze zauważyli, że średnia zawartość cyjanogennych glikozydów, była znacząco różna w przypadku odmian konopi włoskich i francuskich. Francuskie odmiany wykazywały zawartość ponad dwukrotnie większą niż te włoskie (odpowiednio 0,23 i 0,09 g/kg produktu). Warto podkreślić, że przy stężeniach ponad 100 ppm, glikozydy cyjanogenne są szkodliwe dla zdrowia. Średnia zawartość saponin wynosiła około 69,0 mg/kg. Zawartość saponin obserwowana w mące konopnej jest niższa, niż zawartość w soi. Z tego opracowania wynika, że producenci, używający mąk konopnych, powinni sprawdzać źródło jej pochodzenia oraz poddać oznaczeniu stężenia kwasu fitynowego i glikozydów cyjanogennych, których wysoka zawartość, może wpłynąć na wartość odżywczą i smak produktów, do których została użyta mąka konopna.

Hrušková i Švec (2015) w swoich badaniach sprawdzili wpływ mąki jęczmiennej i konopnej na walory sensoryczne ciastek. Celem było uzyskanie wypieku, który miałby podwyższoną zawartość białka i błonnika, przy zachowaniu walorów smakowych produktu obecnego na rynku. Stwierdzono, że dodanie razowej mąki konopnej do dwóch miksów mąki pszenno-jęczmiennej, zwiększyło zawartość białka i obniżyło ich jakość. Ponadto zauważono, że nastąpiły częściowe zmiany w składzie kompleksu polisacharydów, co znalazło

odzwierciedlenie w reologicznym zachowaniu badanych mieszanek. Co więcej, w wyniku dodatku produktu konopnego, nastąpiło osłabienie ciasta. Z praktycznego punktu widzenia, zapisy amylograficzne wykazywały porównywalną lepkość mąki pszennej, mieszanki pszenno-jęczmiennej i próbek trójskładnikowych (tych z dodatkiem mąki konopnej). Włączenie mąki z jęczmienia i konopi siewnej, dało istotny wpływ na zwiększenie objętości właściwej i stosunku rozpiętości upieczonych ciasteczek. Jakość ciastek, zawierających w recepturze 30% mąki jęczmiennej, została poprawiona dzięki dodatkowi handlowej mąki konopnej. Natomiast profil sensoryczny ciasteczek z 50% dodatkiem mąki jęczmiennej w recepturze został poprawiony przez razową mąkę konopną. Podczas przeżuwania produktów zawierających 10% mąki konopnej, zaobserwowano obecność rozdrobnionych łupin nasiennych. Mąka konopna miała wpływ również na smak ciastek, powodując pojawienie się gorzkiego posmaku.

House i in. (2010), w swojej publikacji określili skład makroskładników i jakości białka z nasion konopi oraz produktów uzyskanych z nasion konopii, uprawianych w zachodniej Kanadzie. Zbadali oni 30 próbek produktów pochodzenia konopnego, w tym mąkę konopną, uzyskaną przez tłoczenie nasion na zimno. Otrzymane produkty pochodziły ze źródeł komercyjnych. Analizę bezpośrednią, obejmującą białko surowe, tłuszcz surowy i włókno a także profile pełnego aminogramu, określono dla wszystkich próbek. Skorygowany wskaźnik strawności aminokwasów białek (PDCAAS) był mierzony przy użyciu testu na szczurach. Jako odniesienie było użyte zapotrzebowanie FAO/WHO na aminokwasy dla dzieci w wieku 2-5 lat. Procent strawności białka i wartości PDCAAS wynosił 84,1-86,2 i 49-53% dla nasion konopi, 90,8-97,5 i 46-51% dla mąki z nasion konopi oraz 83,5-92,1 i 63-66% dla obłuszczonych nasion konopi. Według badania oceniającego jakość białka w nasionach konopi oraz przetworów z niej powstałych, w tym mąki konopnej, wynika, że pierwszym aminokwasem ograniczającym we wszystkich produktach, jest lizyna. Wyniki przeprowadzonych badań dostarczyły też dowodów, że białka nasion konopi siewnych mają PDCAAS równy lub większy niż wartości określone dla ziaren zbóż i orzechów.

Wnioski

Największy dodatek mąki konopnej przy maksymalizacji jej walorów prozdrowotnych i przy jak najwyższym poziomie smakowitości dla konsumenta, wynosi od 10 do 20%.

Wysoki udział mąki konopnej w recepturze, może wpływać negatywnie na walory smakowe chleba i innych produktów, nadając im gorzki posmak.

Strata wypiekowa całkowita przy wypieku chleba, jest niezależna od wielkości dodatku mąki konopnej.

Chleb z dodatkiem mąki konopnej może zwiększać indeks sytości pieczywa ze względu na wysoką zawartość białka i błonnika, co może zostać wykorzystane przez producentów do tworzenia produktów przeznaczonych dla klientów z otyłością lub nadwagą.

Przeprowadzone badania, mogą posłużyć piekarniom, które chciałyby wzbogacić swój asortyment o pieczywo specjalnego przeznaczenia.

Literatura

- Apostol L., Popa M. Mustatea G. 2015. *Cannabis sativa L partially skimmed flour as source of bio-compounds in the bakery industry*. Romanian Biotechnological Letters, Vol. 20, No. 5.
- Burczyk H. 2016. *Konopie oleiste (Cannabis sativa L. var. oleifera) uprawiane na nasiona do produkcji oleju i biogazu*. Problemy Inżynierii Rolniczej. Z. 4 (94): 109–116.
- coboru.pl/Polska/Rejestr/odm_w_rej.aspx?kodgatunku=KOP (marzec 2019).
- ekogram.pl/blog/86_maka-konopna-dlaczego-warto (marzec 2019).
- ekogram.pl/pl/blog/95_produkty-z-konopi (marzec 2019).
- ekogram.pl/pl/blog/16_3-legalne-produkty-z-konopi (marzec 2019).
- Galiński G., Anioła J., Gawęcki J., Czarnocińska J. 2011. *Ocena indeksu sytości wybranych produktów spożywczych*. Probl Hig Epidemiol 2011, 92(4): 944-946.
- House J. D., Neufeld J., Leson G. 2010. *Evaluating the quality of protein from hemp seed (Cannabis sativa L.) products through the use of the protein digestibility-corrected amino acid score method*. J. Agric. Food Chem., 58 (22): 11801–11807.
- Hrušková M., Švec I. 2015. *Cookie making potential of composite flour containing wheat, barley and hem*. Czech J. Food Sci., 33: 545–555.
- Moldenhawer K., 1959. *Zboża chlebowe, rośliny strączkowe i konopie z okresu lateńskiego i rzymskiego z okolic Krakowa*. Przegląd Archeologiczny, 11: 23-30.
- pl.wikipedia.org/wiki/Konopie_siewne (marzec 2019).
- Russo R., Reggiani R. 2013. *Variability in antinutritional compounds in hempseed meal of Italian and French varieties*. Plant. Vol. 1, No. 2, 2013: 25-29.
- Skotnicka M., Ocieczek A. 2016. *Wpływ dodatku błonnika witalnego na poziom sytości w jogurtach naturalnych*. Probl Hig Epidemiol 2016, 97(2): 125-12.
- Wasylikowa K. 1969. *Nowe znalezisko konopi (Cannabis Sativa L.) z okresu przed piastowskiego w Polsce*. Sprawozdania Archeologiczne, t. 20: 465-468.
- wikipedia.org/wiki/Konopie_siewne (marzec 2019).

Antybiotykooporność paciorkowców *Enterococcus* wyizolowanych z mleka surowego i serów

Antibiotic resistance of *Enterococcus* isolated from raw milk and cheeses

Joanna Gajewska

Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie
Wydział Nauki o Żywności
Naukowe Koło Mikrobiologii
Opiekun: dr inż. Wioleta Chajęcka-Wierzchowska

Abstact

The aim of the study was to examine the food for the presence of antibiotic resistant *Enterococcus* isolated from 40 food samples. Sixty strains of Enterococci were isolated and analyzed. Using the disc-diffusion method strains were tested for resistance to selected antibiotics, including those used in human treatment: rifampicin, erythromycin, tetracycline, tigecycline, streptomycin, vancomycin. Of the 60 strains tested, more than 40% demonstrated resistance to two or more antibiotics. A high percentage of strains showed resistance to streptomycin (85%), and tigecycline (30%), slight to tetracycline (3%).

Keywords: antibiotic resistant, cheese, *Enterococcus* spp., milk

Wstęp

Przez wiele lat szczepy *Enterococcus* uznawano za drobnoustroje o marginalnym znaczeniu dla zdrowia ludzi, ponieważ stanowią naturalny składnik flory fizjologicznej. Są to bakterie szeroko rozpowszechnione w środowisku naturalnym, występują w wodzie, glebie. Zanieczyszczenie środowiska tymi bakteriami, wynika z zanieczyszczeń wód i gleb fekaliami. Stąd też łatwo kolonizują się na produktach pochodzenia roślinnego, a następnie dostają się do produktów pochodzenia zwierzęcego, takich jak mleko czy mięso. Zanieczyszczenie enterokokami świadczy o zanieczyszczeniu kałowym, co spowodowało, że bakterie te uważane są za wskaźnik higieny procesu produkcji żywności oraz wskaźnik czystości wody. Mimo to, wg Rozporządzenia (WE) Nr 2073/2005, oznaczanie obecności tych drobnoustrojów w żywności w krajach Unii Europejskiej, nie jest wymagane (Róžańska i in. 2013).

Bakterie z rodzaju *Enterococcus* to Gram-dodatnie ziarniaki. Są to bakterie zdolne do wzrostu w niesprzyjających warunkach środowiska. Zaliczane są do bakterii fermentacji mlekowej. Wykazują zdolność wzrostu w szerokim zakresie temperatury (10 – 45°C), tolerują kwasowość środowiska w zakresie pH 4,5 - 9,6, a także wysokie stężenie NaCl, czy soli żółci.

Przeżywają zarówno w warunkach tlenowych, jak i beztlenowych (Śledzińska i in. 2009). Szczepy *Enterococcus* znalazły zastosowanie jako bakterie probiotyczne w żywieniu zwierząt, gdzie odgrywają rolę w poprawianiu równowagi mikroflory przewodu pokarmowego, jak również pomagają w zapobieganiu wrzodom wywoływanym m.in. przez *Clostridium difficile* (Gomes i in., 2010).

Enterokoki mogą stanowić istotny odsetek mikroflory żywności pochodzenia zwierzęcego oraz towarzyszą procesom technologicznym związanym z jej przetwarzaniem. W produkcji żywności, ze względu na zdolność wytwarzania kwasu mlekowego, celowo są dodawane jako kultury starterowe m.in. w produkcji serów mozzarella, cheddar (Włochy) czy ser manchego (Grecja) (Różańska i in., 2013). Niepokojące jest jednak nabywanie antybiotykooporności przez enterokoki. Jak wskazują badania, istnieje możliwość przekazywania genów oporności na wankomycynę czy tetracyklinę między drobnoustrojami podczas procesu fermentacji (Cocconcelli i in., 2003). Mimo pozytywnego wpływu enterokoków na cechy smakowo-zapachowe serów podpuszczkowych, obecność enterokoków w żywności budzi niepokój, co do bezpieczeństwa produktów spożywczych. Wiąże się to z możliwością transferu genów oporności.

Zjawisko antybiotykooporności przez wiele lat było utożsamiane wyłącznie ze środowiskiem szpitalnym. Od niedawna fakt rozprzestrzeniania się antybiotykooporności bakterii, wiązany jest także z żywnością. Co niepokojące, aktualne badania wskazują, że prócz surowców, również żywność przetworzona, stanowi rezerwuar genów oporności. Szczepy *Enterococcus* wykazują naturalną oporność na wiele antybiotyków, należących do różnych grup biochemicznych. Wskazać tutaj należy naturalną oporność na niskie stężenia β -laktamów, aminoglikozydów, cefalosporyny, klindamycyny. Niektóre gatunki wykazują także naturalną obniżoną wrażliwość na penicyliny np. *E. faecium*. Ponadto *E. gallinarum* i *E. casseliflavus* wykazują oporność na niskie stężenia glikopeptydów, natomiast *E. faecalis*, *E. gallinarum*, *E. casseliflavus* wykazują także wrodzoną oporność na linkozamidy i streptograminy A (Talaga-Ćwiertnia i Bulunda, 2018). O ile oporność wrodzona (naturalna), jest stałą cechą charakterystyczną dla danego gatunku czy szczepu, o tyle oporność nabyta pojawia się w wyniku zmian w genomie bakterii. Bakterie mogą przekazywać geny oporności, które znajdują się na ruchomych elementach tj. plazmidach, transpozytonach i integronach (Allen i in. 2010). Najczęściej bakterie przenoszą oporność za pomocą horyzontalnego transferu genów (HGT- Horizontal Gene Transfer). Zjawisko to prowadzić może nawet do powstania szczepów wieloopornych MDR (ang. Multi Drug Resistance). Jednym z głównych czynników, wymienianych jako powód wzrastającej oporności u bakterii izolowanych

z żywności pochodzenia zwierzęcego, jest stosowanie przez lata antybiotykowych stymulatorów wzrostu (ASW). Przyczyniło się to do przedostawania się antybiotyków bądź ich metabolitów do tkanek i narządów zwierząt hodowlanych, a tym samym stworzyło presję selekcyjną dla szczepów, stanowiących mikroflorę żywności pochodzenia zwierzęcego. Obserwacje dotyczące antybiotykooporności paciorkowców z rodzaju *Enterococcus* wyizolowanych z żywności pochodzenia zwierzęcego wskazują na oporność tych bakterii na antybiotyki stosowane w leczeniu ludzi m.in. ciprofloksacynę, norfloksacynę (izolaty z wędlin, serów), tetracykliny, jak również linezolid (izolaty z ryb i przetworów rybnych) (Sergelidis i in., 2013). Oporność na gentamycynę i streptomycynę wśród izolatów z żywności pochodzenia zwierzęcego, w Europie występuje rzadko. Niemniej jednak nieskrępowany przepływ towarów na całym świecie, także może mieć wpływ na rozprzestrzenianie szczepów opornych. W Stanach Zjednoczonych bowiem, występowanie szczepów opornych na wymienione antybiotyki, jest zjawiskiem dosyć częstym (Chajęcka-Wierzchowska i in., 2017).

Niepokojące jest, że enterokoki są zdolne do nabywania oporności na antybiotyki z grupy penicylin (ARE–Ampicillin Resistant *Enterococcus*), aminoglikozydów (HLAR–High Level Aminoglycoside Resistant), glikopeptydów (VRE–Vancomycin Resistant *Enterococcus*). Wzrastająca oporność enterokoków na antybiotyki doprowadziła do sytuacji, w której najbardziej odporne izolaty, są niewrażliwe na prawie wszystkie dostępne obecnie antybiotyki (XDR–Extremely Drug Resistant). (Magiorakos i in., 2012).

Cel i metody badań

Celem pracy było określenie antybiotykooporności szczepów z rodzaju *Enterococcus* izolowanych z mleka surowego, serów z mleka niepasteryzowanego oraz serów podpuszczkowych, dojrzewających.

Materiał do badań stanowiło 60 szczepów enterokoków wyizolowanych z 40 prób żywności (mleko surowe, sery zagrodowe z mleka niepasteryzowanego oraz sery podpuszczkowe, dojrzewające).

Tabela 1. Źródła izolacji szczepów *Enterococcus*

Źródło izolacji szczepów	Liczba szczepów wyizolowanych z danego źródła
Mleko surowe	29
Sery zagrodowe z mleka niepasteryzowanego	18
Sery podpuszczkowe, dojrzewające	13

Źródło: Opracowanie własne.

Badania oznaczania oporności na antybiotyki prowadzono zgodnie z zaleceniami CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) metodą dyfuzyjno-krążkową wg Kirby-Bauera. Uzyskane pojedyncze kolonie szczepów *Enterococcus* zawieszono eż w jałowym płynie fizjologicznym do uzyskania zawiesiny o gęstości 0,5 stopnia McFarlanda z zastosowaniem densytometru Biosan DEN-1B McFarland Densitometer. Następnie przy użyciu jałowych wymazówek, wykonano posiew murawowy na podłożu Mueller-Hintona (Merck). Na tak przygotowane płytki za pomocą dyspensera (Oxoid) nakładano krążki z antybiotykami. Listę użytych antybiotyków przedstawiono w tabeli poniżej (Tabela 2). Płytki inkubowano w temperaturze 37°C przez 24 h. Po inkubacji mierzono strefę zahamowania wzrostu bakterii wokół krążków, następnie uzyskane wyniki porównywano z danymi zawartymi w tabelach sporządzonych przez Clinical Laboratory Standards Institute (Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing, 2017).

Tabela 2. Antybiotyki zastosowane do badań oraz wytyczne odczytu oporności dla szczepów z rodzaju *Enterococcus*

Nazwa antybiotyku	Symbol	Stężenie antybiotyku [µg]	Wytyczne odczytu oporności na podstawie strefy zahamowania wzrostu [mm]		
			S*	I*	R*
Rifampcyna	RD	5	≥20	17-19	≤16
Erytromycyna	E	15	≥23	14-22	≤13
Tetracyklina	TE	30	≥19	15-18	≤14
Tigecyklina	TGC	15	≥21	-	≤20
Streptomycyna	S	300	≥24	-	≤23
Wankomycyna	VA	30	≥17	15-16	≤14

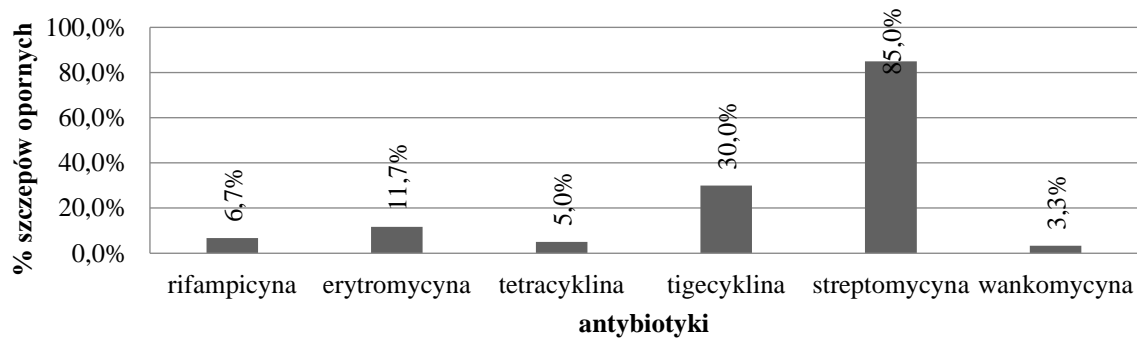
(RD-rifampcyna, E-erytromycyna, TE-tetracyklina, TGC-tigecyklina, S-streptomycyna, VA-wankomycyna na podstawie Instytut Norm Klinicznych i Laboratoryjnych (CLSI) (Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing, 2017) (*S-wrażliwy, I-średniowrażliwy, R-oporny)

Źródło: Opracowanie własne.

Wyniki badań i dyskusja

Uzyskane wyniki badań wykazały wysoki odsetek szczepów opornych na antybiotyki. Spośród 60 badanych szczepów, ponad 40% wykazało oporność na dwa lub więcej antybiotyków. Najczęściej stwierdzano oporność na streptomycynę (85%) oraz tigecyklinę (30%), niewielki na tetracyklinę (3%). Oporność szczepów na streptomycynę była nieoczekiwana, ponieważ jest to antybiotyk nie zarejestrowany w leczeniu zwierząt w Polsce. Wśród wszystkich przebadanych szczepów, wrażliwość na wszystkie z zastosowanych antybiotyków, wykazało jedynie ponad 13% z nich (Rys. 1).

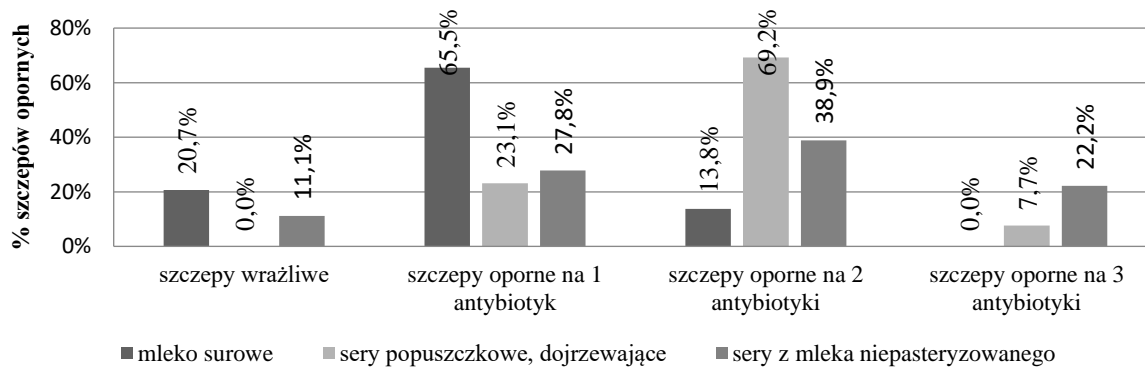
Rysunek 1. Procentowe zestawienie szczepów opornych (n=60)



Źródło: Opracowanie własne.

W analizowanych próbach obecność szczepów *Enterococcus* opornych na wankomycynę, wynosiła 3%. Uzyskany wynik jest istotny, bowiem wankomycynooporne enterokoki stanowią jedne z najgroźniejszych szpitalnych patogenów. Warto zaznaczyć, że po raz pierwszy obecność wankomycynoopornych enterokoków (VRE) w krajach europejskich, odnotowano w 1988 roku. Od tego czasu szczepy *Enterococcus* VRE były często izolowane na całym świecie. Zakaz stosowania awoprycyny, jako stymulatora wzrostu w produkcji zwierzęcej, wprowadzony w 1997 roku, spowodował znaczny spadek występowania szczepów VRE w latach późniejszych.

Rysunek 2. Stopień oporności na antybiotyki w zależności od źródła izolacji (opracowanie własne)



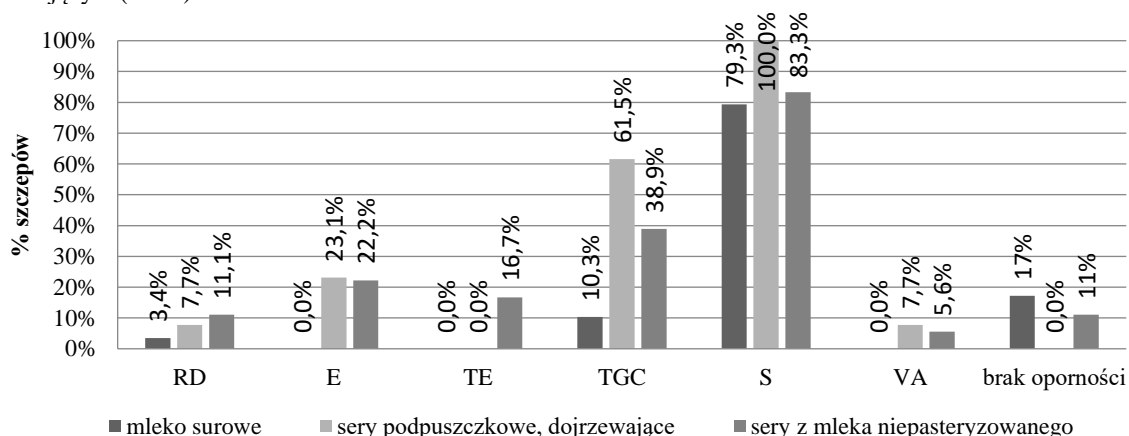
Źródło: Opracowanie własne.

Porównanie stopnia oporności na antybiotyki w zależności od źródła izolacji szczepów, przedstawiono na rysunku 2. Jak można zauważyć, stopień oporności szczepów wyizolowanych z mleka surowego, serów podpuszczkowych, dojrzewających i serów z mleka niepasteryzowanego jest różny. Większość szczepów wyizolowanych z serów, zarówno dojrzewających, jak i zagrodowych, z mleka niepasteryzowanego, wykazała oporność na dwa

lub więcej antybiotyków. Należy zwrócić uwagę na szczepy wyizolowane z serów podpuszczkowych, dojrzewających, wśród których żaden szczep nie wykazał wrażliwości na jakikolwiek z zastosowanych antybiotyków.

Biorąc pod uwagę źródło izolacji, widać różnice w odsetku szczepów opornych na poszczególne antybiotyki (rysunek 3). Oporność na tetracyklinę wykazały wyłącznie szczepy wyizolowane z serów z mleka niepasteryzowanego (16,7% izolatów). Różnice oporności między izolatami z serów podpuszczkowych, dojrzewających i serów z mleka niepasteryzowanego, zaobserwowano wobec tetracykliny (0% vs 16,7%), rifampicyny (7,7% vs 11,1%), tigeicykliny (61,5% vs 38,9%). Wysoki odsetek szczepów z każdego źródła izolacji, wykazał oporność na streptomycynę. Uwagę zwracają izolaty z serów z mleka niepasteryzowanego, wśród których wykazano oporność na wszystkie z zastosowanych w badaniu antybiotyki. Spośród szczepów z mleka surowego, wykazano oporność na połowę z zastosowanych w badaniu antybiotyków.

Rysunek 3. Procentowe zestawienie szczepów opornych z rodzaju *Enterococcus* izolowanych z mleka surowego (n=29), z serów zagrodowych z mleka niepasteryzowanego (n=18) oraz z serów podpuszczkowych, dojrzewających (n=13)



Źródło: Opracowanie własne.

W tabeli poniżej (tabela 3), przedstawiono fenotypy oporności bakterii z rodzaju *Enterococcus*. Analiza wyników wskazuje, że najczęstszą kombinacją antybiotyków, na które szczepy wykazywały oporność, była streptomycyna i tigeicyklina (23,4% izolatów), pojedyncze izolaty były odporne na połowę z zastosowanych w badaniu antybiotyków.

Najnowsze doniesienia wskazują na rosnące zagrożenie dla zdrowia ludzi i zwierząt ze strony enterokoków oportunistycznych. Ze względu na wzrastające znaczenie tych szczepów w zakażeniach szpitalnych, antybiotykooporność tych bakterii, stała się przedmiotem wielu badań.

Badania antybiotykooporności mleka surowego przeprowadził Citak i in. (2005). Badaniu poddano 177 szczepów *Enterococcus* wyizolowanych z mleka surowego. Badacze wykorzystali 13 antybiotyków. Wśród izolatów, w porównaniu do niniejszych badań, wyższy odsetek wykazał oporność na wankomycynę (37%), na erytromycynę natomiast 86%. Oporność na streptomycynę wykazał równie wysoki odsetek izolatów (97%). Również oporność enterokoków na rifampicynę w badaniu Citak, była wyższa i wynosiła 37%.

W badaniach Róžańskiej (2011), analizom poddano natomiast mleko, mleczne produkty, surowe mięso oraz mielone mięso wołowe. Najwyższy poziom oporność odnotowano dla tetracykliny (39,1%) i gentamycyny (47,1%). Podobnie jak w niniejszych badaniach, stwierdzono wysoki odsetek szczepów opornych na streptomycynę (84,1%). Badacze uzyskali także wyższy odsetek szczepów opornych na wankomycynę (6,5%). Niespełna 1% badanych szczepów enterokoków był oporny na dwa lub więcej z zastosowanych antybiotyków.

Tabela 3. Fenotypy oporności bakterii z rodzaju *Enterococcus* wyizolowanych z różnych źródeł

Kombinacja antybiotyków	Liczba (odsetek) szczepów opornych			
	Mleko surowe	Sery podpuszczkowe, dojrzewające	Sery zagrodowe z mleka niepasteryzowanego	Ilość szczepów ogółem
S	19 (65,5)	3 (23,1)	4 (22,2)	26 (43,3)
TGC	-	-	1 (5,6)	1 (1,7)
S, VA	-	1 (7,7)	-	1 (1,6)
S, RD	1 (3,5)	1 (7,7)	1 (5,6)	3 (4,8)
S, TGC	3 (10,4)	7 (53,8)	4 (22,2)	14 (23,4)
S, TE	-	-	2 (11)	2 (3,2)
S, E, TGC	-	-	1 (5,6)	1 (1,7)
S, E, RD	-	-	1 (5,6)	1 (1,7)
S, TGC, RD	-	1 (7,7)	-	1 (1,7)
S, TE, E	-	-	1 (5,6)	1 (1,7)
S, VA, TGC	-	-	1 (5,6)	1 (1,7)
Brak oporności	6 (20,6)	-	2 (11)	8 (13,4)

(RD-rifampicyna, E-erytromycyna, TE-tetracyklina, TGC-tigecyklina, S-streptomycyna, VA-wankomycyna)
Źródło: Opracowanie własne.

Sanlibaba i in. (2018) badaniu poddali szczepy *Enterococcus* pod kątem oporności na 12 różnych środków przeciwdrobnoustrojowych. W wynikach uzyskanych przez badaczy, w porównaniu do niniejszych badań, wykazano wyższy odsetek szczepów opornych na erytromycynę (18,8%), tetracyklinę (11,7%) oraz rifampicynę (78,4%). Oporność na streptomycynę badacze wykazali w znacznie niższym odsetku szczepów (1,4%). Żaden z badanych szczepów nie był oporny na wankomycynę. W tym badaniu badacze wykazali ponad 70% szczepów *Enterococcus* opornych na więcej niż trzy różne antybiotyki.

Szerząca się antybiotykooporność bakterii jest skutkiem wielu powiązanych ze sobą czynników. Warto podkreślić, że szerokie i często samowolne stosowanie antybiotyków w chowie zwierząt, przyczyniło się do wzrostu tego zjawiska. Mimo wycofania streptomycyny, stosowanej jako antybiotykowy stymulator wzrostu, wyniki wskazują na wysoki odsetek szczepów opornych na ten antybiotyk. Przyczyny tego zjawiska można doszukiwać się w stosowaniu streptomycyny również w produkcji roślinnej. Stąd też bakterie mogą łatwo przedostawać się do surowców pochodzenia zwierzęcego. Od lat 50. XX wieku streptomycynę wykorzystuje się do zapobiegania zakażeniom grusz i jabłoni, co stworzyło presję selekcyjną i wygenerowało oporność na aminoglikozydy wśród enterokoków (Talaga-Ćwiertnia, Bulunda, 2018). Możliwość stosowania w krajach Unii Europejskiej antybiotyków z grupy tetracyklin (m.in. tetracyklina, tigeicyklina) w celach terapeutycznych, ma odzwierciedlenie w izolowanych szczepach enterokoków z produktów pochodzenia zwierzęcego, opornych na tę grupę antybiotyków. Biorąc pod uwagę nieograniczony przepływ surowców i możliwość stosowania różnych grup antybiotyków m.in. w Chinach czy Australii jako ASW czy w profilaktyce, zjawisko antybiotykooporności może się łatwo rozwijać i rozprzestrzeniać.

Sery zagrodowe z mleka niepasteryzowanego są często wybierane, ze względu na ich niepowtarzalny smak i aromat. Często podczas produkcji serów zagrodowych dochodzi do zanieczyszczenia produktów z rąk pracowników, a także sprzętów używanych w produkcji. Mikroflora serów zagrodowych niejednokrotnie jest odzwierciedleniem mikroflory mleka surowego. Niemniej jednak, stosowanie wysokiej obróbki cieplnej, nie gwarantuje wyeliminowania tych bakterii ze środowiska produkcji żywności. Pomimo, że liczne dane literaturowe wskazują, że obecność tych szczepów w żywności nie stanowi bezpośredniego zagrożenia dla zdrowia konsumenta, należy zwrócić uwagę na zdolność enterokoków do nabywania mobilnych elementów genetycznych odpowiedzialnych za oporność na antybiotyki.

Podsumowanie

Analiza wyników uzyskanych w tym badaniu wykazała, że bakterie z rodzaju *Enterococcus* stanowią często zarówno mikroflorę resztkową żywności przetworzonej, jak również niepoddanej zabiegom technologicznym. Stwierdzenie w żywności szczepów opornych na antybiotyki, może mieć pośredni wpływ na jej bezpieczeństwo. Wyniki badań, jak również wzrost liczby opornych szczepów izolowanych z żywności, sugerują potrzebę wzmożonej kontroli jakości produktów spożywczych a w szczególności produktów niepoddanych obróbce termicznej.

Literatura

- Allen H. K., Donato J., Wang H. H., Cloud-Hansen K. A., Davies J., Handelsman J., 2010, *Call of the wild: antibiotic resistance genes in natural environments*. Nature Reviews Microbiology 8: 251-259.
- Gomes B.C., deMelo F.B.D.G., DeMartinis E.C.P., 2010, *Dualistic aspects of Enterococcus spp. in foods*, Appl Microbial Biotechnol: 1119–1125.
- Chajęcka-Wierzchowska W., Zadernowska A., Łaniewska-Trokenheim Ł., 2017, *Oporność na antybiotyki bakterii z rodzaju Enterococcus występujących w żywności*, Kosmos Probl. Nauk Biol. 314: 67–79.
- Citak S., Yucel N., Mendi A., 2005, *Antibiotic resistance of enterococcal isolates in raw milk*, Journal of Food Processing and Preservation: 183-195.
- Clinical and Laboratory Standards Institute, 2017, Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing, <http://www.facm.ucl.ac.be/intranet/CLSI/CLSI2017-M100-S27.pdf> (dostęp: 07.02.2019).
- Cocconcelli P., Cattivelli D., Gazzola S., 2003, *Gene transfer of vancomycin and tetracycline resistances among Enterococcus faecalis during cheese and sausage fermentations*. Int. J. Food Microbiol., 88: 315-323.
- Magiorakos A., Monnet D., 2012, *Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance*, Clin. Microbiol. Infect. 18: 268–281.
- Różańska H., 2011, *Antibiotic susceptibility of Enterococcus spp. isolated from food of animal origin*, Medycyna Weterynaryjna, 67(10): 683-684.
- Różańska H., Lewtak-Piłat A., Osek J., 2013, *Enterokoki- bakterie o wielu obliczach*, Życie Weterynaryjne 88 (7): 562-56.
- Sanlibaba P., Sentruk E., 2018, *Prevalance, characterization and antibiotic resistance of enterococci from traditional cheese in Turkey*, 21: 1955-1963.
- Sergelidis D., Abraham A., Papadopoulos T., Kirkoudis J., Anagnostou V., Papavergou A., Papa A., 2013, *Antimicrobial susceptibility of Enterococcus spp. isolated from fresh water fish and personnel and equipment of fish markets in northern Greece*. J. Hell. Vet. Med. Soc. 64: 239–248.
- Śledzińska A., Samet A., Gładysz A., 2009, *Enterokoki jako bakterie zakażeń szpitalnych*, wyd. Conline 59.
- Talaga-Ćwiertnia K., Bulanda M., 2018, *Lekooporność rodzaju Enterococcus-aktualny problem wśród ludzi i zwierząt*, Postępy Mikrobiologii, 57: 244-250.

Oporność *Listeria monocytogenes* na chlorek benzalkoniowy i chlorek kadmu

Resistance of *Listeria monocytogenes* to benzalkonium chloride and cadmium chloride.

Aleksandra Małachwiej
Arkadiusz Zakrzewski
Urszula Zarzecka

Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie
Naukowe Koło Mikrobiologii
Wydział Nauk o Żywności
Opiekun: dr inż. Wioleta Chajęcka-Wierzchowska

Abstract

Listeria monocytogenes is Gram-positive rod-shape bacteria. These psychotrophic microorganisms is resistant to many environmental factors, such as low pH (acidity) or high salinity. Refrigerated ready-to-eat products which do not require heating are particularly vulnerable to the growth of *L. monocytogenes*.

L. monocytogenes easily becomes resistant to disinfectants, such as quaternary ammonium compounds and heavy metal salts. The resistance is caused by a numerous of genetically determined modifications, such as efflux pumps or changes in cellular membrane permeability. This phenomenon makes *L. monocytogenes* a serious hazard in the food industry.

The aim of the study was to determine the resistance of the *L. monocytogenes* strains isolated from food to benzalkonium chloride and cadmium chloride, and to identify genes responsible for the phenomenon.

The analysed strains were identified and assigned to respective serotype groups. A polymerase chain reaction (PCR) was used to determine the presence of *bcrABC* gene, which dictate the resistance to benzalkonium chloride, and *cadA1* and *cadA2* genes, responsible for the resistance to cadmium chloride.

Keywords: *Listeria monocytogenes*, benzalkonium chloride, cadmium chloride

Wstęp

Listeria monocytogenes to krótkie Gram-dodatnie, względnie beztlenowe pałeczki, które występują pojedynczo lub w krótkich łańcuszkach (Muskalska i Szymczak 2015). Nie tworzą przetrwalników ani otoczek. Są organizmami psychrotrofowymi, przejawiają zdolność adaptacji do różnych warunków środowiska. Rosną w temperaturach od -2°C do 45°C, przy optimum wynoszącym 37°C a całkowitej inaktywacji, ulegają w temperaturze sięgającej 75°C. W związku z tym są odporne na mrożenie i krótkotrwałą pasteryzację. Pałeczki *L. monocytogenes* tolerują wysokie stężenie soli oraz szeroki zakres pH środowiska (4,4-9,6).

Mogą przeżyć nawet przy 30% stężeniu CO₂. Szybko uodparniają się na działanie dezynfektantów i konserwantów (Walczycka 2005).

Obecnie wyróżnia się 12 serotypów *L. monocytogenes* – 1/2a, 1/2b, 1/2c, 3a, 3b, 3c, 4a, 4b, 4c, 4d, 4e oraz 7. Niektóre źródła dodają trzynasty serotyp – 4ab. W 1989 roku Piffaretti i wsp. zbadali różnice sekwencji 3 genów – *flaA* (kodującego flagelinę), *hly* (kodującego listeriolizynę O) oraz *iap* (kodującego białko p60). Na tej podstawie podzielono *L. monocytogenes* na 5 serogrup skorelowanych z linią ewolucyjną (Doumith i in. 2004). Z żywności najczęściej izoluje się szczepy z grupy antygenowej 1/2, a więc należące do serotypów 1/2a, 1/2b oraz 1/2c (Wróblewska i Misiewicz 2006).

L. monocytogenes są najbardziej rozpowszechnione spośród wszystkich gatunków należących do rodzaju *Listeria*. Można je wyizolować z wody, gleby, ścieków, czy gnijącej roślinności (Lachara i in. 2016). Rezerwuarem tego drobnoustroju są również ryby, ptaki i wiele gatunków ssaków. Znajdowane są także w kiszonkach, którymi karmi się zwierzęta rzeźne, dlatego często dochodzi do zakażenia surowców pochodzenia zwierzęcego (Wróblewska i Misiewicz 2006). Wiele badań mówi o stosunkowo częstym występowaniu *L. monocytogenes* w mleku, surowym mięsie – zarówno wieprzowym, wołowym, jak i w drobiu oraz w rybach i owocach morza (Cichocka i Skotarczak 2002). Największe niebezpieczeństwo zachorowania na listeriozę dla ludzi, stanowią jednak produkty gotowe do spożycia bez potrzeby obróbki termicznej (ready-to-eat). Z uwagi na psychrotrofowy charakter *L. monocytogenes*, istnieje niebezpieczeństwo wystąpienia ich w produktach przechowywanych w lodówkach przez dłuższy okres czasu, np. w białym serze oraz pasztecie (Walczycka 2005).

Choroba, której czynnikiem etiologicznym jest *L. monocytogenes* to listerioza. Najczęściej - w około 90% przypadków, odpowiedzialne są za nią serotypy 1/2a, 1/2b i 4b (Wróblewska i Misiewicz 2006). Śmiertelność w następstwie zachorowania na listeriozę sięga aż 30% (Walczycka 2005). Bakterie te mają niski potencjał patogenności - minimalna liczba komórek potrzebna do wywołania infekcji jest wysoka - aż 10²-10⁴ jtk/g (McLauchlin i in. 2004). Nawet 5-10% ludzi może być bezobjawowymi nosicielami pałeczek *Listeria* sp. Najczęściej chorują ludzie o niskiej odporności. W grupie narażonej na infekcje są hodowcy drobiu, trzody i bydła, służby weterynaryjne, rzeźnicy oraz masarze. Wynika to z faktu, iż listerioza może być przenoszona również drogą odzwierzęcą (Gliński i Kostro 2012).

By ograniczyć ryzyko infekcji, stosowane są procesy dezynfekcji. Służą one redukcji form wegetatywnych drobnoustrojów do liczby, która jest uznawana za bezpieczną

dla użytkowników. (Krzyżewska i in. 2015). Podstawową metodą kontroli rozprzestrzeniania się drobnoustrojów, są chemiczne środki dezynfekcyjne - m.in. alkohole, aldehydy, kwasy organiczne, fenole, czwartorzędowe związki amoniowe i metale ciężkie. Wykazują one działanie bakteriostatyczne i bakteriobójcze, zależnie od rodzaju i stężenia danej substancji. Ze względu na szerzącą się oporność, coraz częściej stosuje się mieszanki kilku środków w celu zwiększenia skuteczności. (Książczyk i in. 2015). Przez powszechność stosowania związków przeciwdrobnoustrojowych, mikroorganizmy wykształciły szereg mechanizmów, pozwalających przetrwać w warunkach stresowych i przystosowania się do nich (Chojecka i in. 2010).

Chlorek benzalkoniowy (BC) należy do czwartorzędowych soli amoniowych i jest najpowszechniej stosowanym środkiem dezynfekcyjnym w zakładach przemysłu spożywczego. Używa się go również w lecznictwie – do odkażania błon śluzowych, skóry, płukaniu pęcherza czy odkażania narzędzi chirurgicznych (Telesiński i in. 2016). Jest to skuteczny środek dezynfekcyjny w stosunku do większości bakterii. Niektóre, początkowo wrażliwe szczepy, stały się jednak odporne. Tak stało się w przypadku *Listeria monocytogenes*. Oporność może być spowodowana zmianami genetycznymi lub adaptacją fenotypową po długiej ekspozycji na dany dezynfekant. Adaptacja fenotypowa jest jednak tracona, gdy środowisko jest wolne od czynnika stresowego. Mechanizmami oporności jest przede wszystkim system usuwania związku z wnętrza komórki za pomocą transporterów błonowych ABC (ATP- Binding Cassette) i MFS (Major Facilitator Superfamily) (Obłąk i Gamian 2010). Są to kompleksy białkowe, znajdujące się w błonie komórkowej drobnoustroju, mające za zadanie usunąć substancje toksyczne.

System pomp efflux ABC u *Listeria monocytogenes* kodowany jest przez kasetę *bcrABC* umiejscowioną na plazmidzie pLM80 (Katharios-Lanwermyer i in. 2012). Do rodziny transporterów MFS u *Listeria monocytogenes* należą pompy efflux QacA. Pompy te są produktami genu *qacA*, który może znajdować się tak na plazmidach, jak również na chromosomie. W związku z umiejscowieniem genów na plazmidach, bakterie mogą przekazywać je sobie na zasadzie horyzontalnego transferu genów, co powoduje dalsze szerzenie się oporności (Obłąk i Gamian 2010).

Metale ciężkie to pierwiastki chemiczne o gęstości względnej wyższej niż 5 g/cm³, np. kadm, żelazo, cynk czy chrom. Wiele z nich negatywnie oddziałuje na organizmy żywe, w tym również na drobnoustroje, co zostało wykorzystane w chemicznych środkach dezynfekcyjnych, gdzie metale ciężkie mogą występować w postaci soli (Oleńska i Małek 2013). Utleniają one grupy tiolowe białek błonowych, cytoplazmatycznych i enzymatycznych, co prowadzi do

zaburzenia lub całkowitej inhibicji reakcji metabolicznych i koagulacji cytoplazmy. Bakterie wykształciły również mechanizmy oporności na działanie soli metali ciężkich. Jedna grupa modyfikacji ma za zadanie zablokowanie wnikania jonów metali ciężkich do cytoplazmy. Dzieje się tak dzięki modyfikacjom przepuszczalności osłon komórkowych, jak również dzięki wiązaniu jonów metali ciężkich przez metabolity bakteryjne na zewnątrz komórki. Druga grupa modyfikacji odpowiada za detoksykację jonów metali, które wniknęły do komórki i znajdują się w cytoplazmie. Drobnoustroje mogą usuwać jony poza komórkę za pomocą pomp, wiązać jony metali wewnątrzkomórkowo lub je enzymatycznie detoksyfikować (Oleńska i Małek 2013).

Za oporność *L. monocytogenes* na jeden z metali ciężkich – kadm odpowiedzialne są pompy efflux, kodowane przez geny *cadA1*, *cadA2*, *cadA3* i *cadA4* kasety genomowej *CadA* znajdujące się na ruchomych fragmentach genów - plazmidach (Parsons i in. 2016). Geny oporności na kadm u *Listeria* występują na plazmidzie będącym częścią złożonego transpozonu, na którym występuje kasetta genomowa *bcrABC*, odpowiadająca za oporność na chlorek benzalkoniowy (Katharios-Lanwermyer i in. 2012).

Cel

Celem badań była identyfikacja genów odpowiadających za oporność *Listeria monocytogenes* na chlorek benzalkoniowy i chlorek kadmu.

Materialy i metody

Badaniom poddano 50 szczepów *Listeria monocytogenes* wyizolowanych z żywności, pochodzących z kolekcji Katedry Mikrobiologii Przemysłowej i Żywności.

1. Przygotowanie materiału do badań

Przechowywane w MicrobankachTM szczepy rozmrożono w bulionie z glukozą. Inkubację prowadzono przez 24 godziny w temperaturze 37⁰C. Następnie szczepy przesiano na agar odżywczy i ponownie poddano inkubacji przez 24 godziny w temperaturze 37⁰C. Hodowle uzyskane na agarze, zostały wykorzystane do izolacji DNA przy pomocy zestawu Genomic Mini (A&A Biotechnology) zgodnie z zaleceniami producenta.

2. Serotypowanie

Wyizolowane DNA wykorzystano do określenia grupy serotypowej badanych szczepów za pomocą reakcji Multiplex PCR. Reakcję przeprowadzono z wykorzystaniem starterów i warunków reakcji przedstawionych przez Doumith i in. (2004).

Zastosowany w reakcji PCR Master Mix:

- 10,1 µl H₂O
- 100 mM buforu RUN
- 1,5 mM roztworu MgCl₂
- 0,2 mM dNTP
- 2,0 U polimerazy Taq RUN
- 1,0 µM primera lmo0737-f
- 1,0 µM primera lmo0737-r
- 1,5 µM primera lmo1118-f
- 1,5 µM primera lmo1118-r
- 1,0 µM primera ORF2819-f
- 1,0 µM primera ORF2819-r

3. Określenie obecności genu *bcrABC*

Reakcję PCR, w celu oznaczania obecności genu *bcrABC*, przeprowadzono z wykorzystaniem procedury przedstawionej przez Elhanafi i in. (2010).

Skład mieszaniny reakcyjnej użyty w reakcji PCR dla genu *bcrABC*:

- 13,5 µl H₂O
- 100 mM buforu RUN
- 2,0 mM roztworu MgCl₂
- 0,2 mM dNTP
- 2 U polimerazy Taq RUN
- 0,2 mM primera *bcrABC*-f
- 0,2 mM primera *bcrABC*-r

4. Określenie obecności genów *cadA1* i *cadA2*

Aby zbadać, czy szczepy posiadają geny *cadA1* i *cadA2*, przeprowadzono reakcję PCR zgodnie z procedurą przedstawioną przez Mullapudi in. (2010).

Skład mieszaniny reakcyjnej użyty w reakcji PCR dla genu *cadA1*:

- 13,5 µl H₂O
- 100 mM buforu RUN
- 2,0 mM roztworu MgCl₂
- 0,2 mM dNTP
- 2 U polimerazy Taq RUN
- 0,2 mM primera *cadA1*-f
- 0,2 mM primera *cadA1*-r

Skład mieszaniny reakcyjnej użyty w reakcji PCR dla genu *cadA2*:

- 13,5 µl H₂O
- 100 mM buforu RUN
- 2,0 mM roztworu MgCl₂
- 0,2 mM dNTP
- 2 U polimerazy Taq RUN
- 0,2 mM primera *cadA2*-f
- 0,2 mM primera *cadA2*-r

Poniżej przedstawiono startery użyte w reakcjach PCR:

Tabela 1. Startery użyte do reakcji PCR

Gen	Startery	Sekwencja starterów (5'-3')	Wartość produktu PCR	Temperatura przyłączania starterów	Źródło
<i>lmo0737</i> (serotypy 1/2a, 1/2c, 3a i 3c)	<i>lmo0737-f</i>	AGG GCT TCA AGG ACT TAC CC	691 pz	53°C	Doumith in in. (2004)
	<i>lmo0737-r</i>	ACG ATT TCT GCT TGC CAT TC			
<i>lmo1118</i> (serotypy 1/2c i 3c)	<i>lmo1118-f</i>	AGG GGT CTT AAA TCC TGG AA	906 pz		
	<i>lmo1118-r</i>	CGG CTT GTT CGG CAT ACT TA			
ORF2819 (serotypy 1/2b, 3b, 4b, 4d i 4e)	ORF2819-f	AGC AAA ATG CCA AAA CTC GT	471 pz		
	ORF2819-r	CAT CAC TAA AGC CTC CCA TTG			
<i>bcrABC</i>	<i>bcrABC-f</i>	CAT TAG AAG CAG TCG CAA AGC A	1130 pz	55°C	Elhanafi in. (2010)
	<i>bcrABC-r</i>	GTT TTC GTG TCA GCA GAT CTT TGA			
<i>cadA1</i>	<i>cadA1-f</i>	CAG AGC ACT TTA CTG ACC ATC AAT CGT T	594 pz	54°C	Mullapudi i in. (2010)
	<i>cadA1-r</i>	CTT CTT CAT TTA ACG TTC CAG CAA AAA			
<i>cadA2</i>	<i>cadA2-f</i>	ACA AGT TAG ATC AAA AGA GTC TTT TAT T	590 pz		
	<i>cadA2-r</i>	ATC TTC TTC ATT TAG TGT TCC TGC AAA T			

Źródło: Opracowanie własne.

5. Rozdział elektroforetyczny produktów amplifikacji

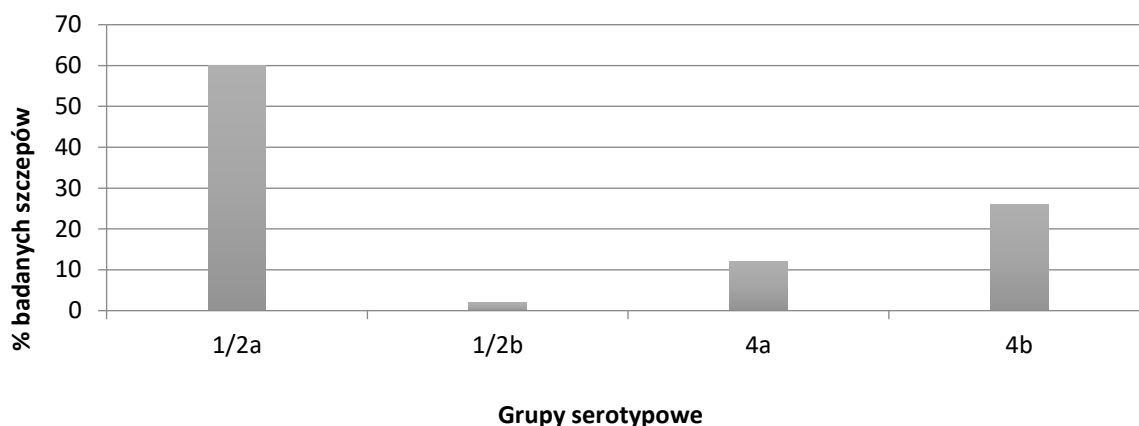
Elektroforezę produktów każdej z przeprowadzonych reakcji PCR prowadzono w 1,5% żelu agarozowym z dodatkiem bromku etydyny. Elektroforeza prowadzona była w buforze 1xTBE w następujących warunkach: 6 min przy napięciu 100 V, po czym następował etap trwający 1,5 h przy napięciu 80 V. Aby móc dokładnie określić wielkość uzyskanych amplikonów, rozdziałowi elektroforetycznemu poddawano także marker mas molekularnych 100 bp. Po zakończeniu rozdziału, produkty uwidaczniano w świetle UV zastosowaniem systemu do analizy i dokumentacji żeli G-box (Syngene).

Wyniki

1. Serotypowanie

Z przeprowadzonych badań wynika, że 30 szczepów (60%) należy do grupy serotypowej 1/2a. Trzydzieści analizowanych szczepów należy do grupy 4b, 6 - do grupy 4a a tylko jeden szczep (2%) – do grupy serotypowej 1/2b (rysunek.1).

Rysunek. 1 Procentowy udział szczepów należących do poszczególnych grup serotypowych



Źródło: Opracowanie własne.

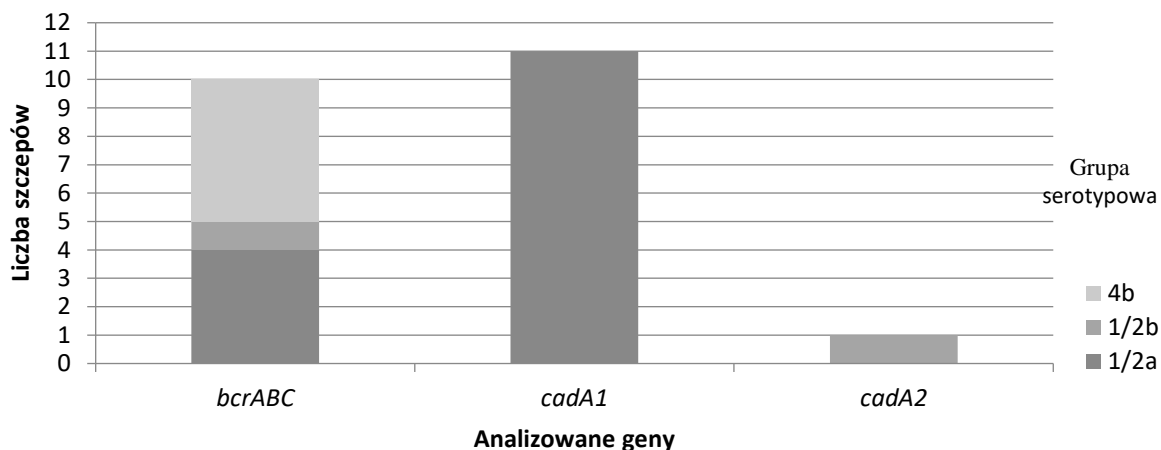
2. Określanie obecności genów *bcrABC* oraz *cadA1* i *cadA2*

Na podstawie elektroforetycznej wizualizacji produktów reakcji PCR, obecność genu *bcrABC* (widoczny prążek na wysokości 1130 pz) stwierdzono u 10 z 50 szczepów (20%). Spośród wszystkich szczepów, u których stwierdzono obecność genu *bcrABC*, 5 (50%) należało do serogrupy 4b, 4 (40%) – do grupy serotypowej 1/2a, zaś 1 (10%) – do grupy 1/2b.

Obecność genu *cadA1* stwierdzono u 11 szczepów (22%). Wszystkie należały do grupy serotypowej 1/2a. Z kolei obecność genu *cadA2* stwierdzono tylko u 1 szczepu (2%), który należał do serogrupy 1/2b.

Wśród analizowanych szczepów geny *cadA1* i *cadA2* nie występowały równocześnie. Zarówno kombinacja genów *bcrABC* i *cadA1*, jak też *bcrABC* i *cadA2*, wystąpiła jedynie u 1 szczepu (rysunek 2).

Rysunek. 2 Liczba szczepów posiadających analizowane geny w zależności od przynależności do grup serotypowych



Źródło: Opracowanie własne.

Dyskusja

Z uwagi na szerzący się problem oporności drobnoustrojów na środki dezynfekcyjne, w niniejszej pracy zbadano, czy w szczepach *Listeria monocytogenes* wyizolowanych z żywności, znajdują się geny: *bcrABC* – odpowiadający za oporność na chlorek benzalkoniowy i *cadA1* oraz *cadA2* – warunkujące oporność na sole kadmu.

Gen *bcrABC* stwierdzono tylko w przypadku 10 szczepów (20%). Nie jest on jedynym czynnikiem odpowiedzialnym za oporność na BC. Znane są też inne, nieanalizowane w tej pracy determinanty oporności pałeczek z rodzaju *Listeria* na IV-rzędowe związki amoniowe – takie jak gen *qacA* czy *qacH* (Xu i in. 2014).

Ten jakże aktualny problem, jakim jest oporność *L. monocytogenes* na chlorek benzalkoniowy, był badany przez innych autorów. Katharios-Lanwermyer i wsp. przeanalizowali 19 szczepów *Listeria* sp. U 5 szczepów (26,32%) z gatunków *L. welshimeri* i *L. innocua* stwierdzili oporność na BC. U wszystkich opornych szczepów potwierdzili obecność genu *bcrABC*. Wszystkie badane przez nich szczepy *L. monocytogenes* były odporne na chlorek benzalkoniowy i posiadały gen *bcrABC* (Katharios-Lanwermyer i in. 2012). Jiang i wsp. wyizolowali 59 szczepów *Listeria monocytogenes* z żywności - między innymi z warzyw, owoców morza i surowego mięsa. 13 szczepów było opornych na chlorek benzalkoniowy. Najwięcej opornych szczepów należało do grupy serotypowej 1/2a. Jednak tylko 2 z 13 opornych szczepów posiadało gen *bcrABC* (Jiang i in. 2016), co świadczy o istnieniu innych determinantów oporności na BC. W 2013 roku zespół badawczy Dutty opisał badania przeprowadzone na 116 szczepach *L. monocytogenes* pochodzących z zakładów przetwórstwa żywności, żywności, środowiska i próbek klinicznych. Spośród nich 71 szczepów (61,21%) było opornych na chlorek benzalkoniowy, a wśród nich 70 szczepów posiadało gen *bcrABC* (Dutta i in. 2013). Soumet wraz ze współpracownikami zajęli się analizą oporności na BC szczepów *L. monocytogenes* wyizolowanych z wędzonych na zimno ryb. Aż 108 z 254 szczepów było opornych na użyty dezynfekant. Autorzy powiązali zwiększoną tolerancję na analizowany środek z przynależnością do grupy serotypowej 1/2a (Soumet i in. 2005). Badaniem oporności na IV-rzędowe związków amoniowych zajęła się również Popowska wraz ze współpracownikami. Wśród 96 szczepów *L. monocytogenes* pochodzących z mrożonych warzyw i produktów mlecznych, aż 62 nie przejawiało wrażliwości na BC. Autorzy nie określili jednak genów, mogących odpowiadać za to zjawisko (Popowska i in. 2006).

W niniejszych badaniach, gen *cadA1* wystąpił u 11 z 50 analizowanych szczepów (22%). Z kolei gen *cadA2* był obecny tylko u jednego z 50 badanych szczepów (2%). Oba geny w żadnym wypadku nie wystąpiły jednocześnie. Jednak obecność zarówno genu *bcrABC* i *cadA1* oraz *bcrABC* i *cadA2*, stwierdzono u jednego szczepu.

Genetyczne determinanty oporności na kadm u *L. monocytogenes* również były analizowane przez innych badaczy. W pracy Lee i wsp. analizowanych było 136 szczepów klinicznych *L. monocytogenes* należących do serotypu 4b. U 45 stwierdzono oporność na sole metali ciężkich – arsenu i kadmu. Jako czynniki warunkujące oporność na kadm, opisano geny *cadA1*, *cadA2*, *cadA3* oraz *cadA4* (Lee i in. 2013). Korsak i Szuplewska pracowały na 127 szczepach wyizolowanych z żywności oraz zakładów przetwórstwa żywności. Należały one do gatunków *L. innocua*, *L. welshimeri*, *L. seeligeri* i *L. grayi*. 55,91% szczepów było opornych na kadm. Autorki zbadały również oporność na BC – stwierdziły ją u 18,11% szczepów, z których wszystkie były też odporne na kadm (Korsak i Szuplewska 2016). Zhang i wsp. stwierdzili oporność na kadm u 14 z 22 analizowanych szczepów *L. monocytogenes*. U 3 szczepów stwierdzono tolerancję na chlorek benzalkoniowy – 2 szczepy były odporne na oba dezynfekanty jednocześnie. Autorzy sprawdzili również czy badane szczepy posiadały geny *cadA1*, *cadA2*, *cadA3* oraz *cadC*. U żadnego szczepu nie wystąpiły geny *cadA2* i *cadA3*. U 7 szczepów obecny był gen *cadA1*, w 3 z kolei – *cadC*. Tylko u 1 szczepu, geny *cadA1* i *cadC*, wystąpiły równocześnie. Większość szczepów opornych na badane środki chemiczne należało do serogrupy 1/2a (Zhang i in. 2015). W 2012 roku Katharios-Lanwermyer wraz ze współpracownikami również przeanalizowali oporność pałeczek z rodzaju *Listeria* na kadm oraz BC. Wśród 19 szczepów – 11 było opornych na kadm. Należały one do gatunków *L. innocua* oraz *L. welshimeri*. Badane szczepy *L. monocytogenes* okazały się być wrażliwe. Wśród 11 opornych szczepów, 3 posiadały gen *cadA1*, a 7 gen *cadA2*. W żadnym wypadku nie występowały one równocześnie. Wyniki pokazują, że jeden szczep posiadał inne determinanty oporności niż te, analizowane w pracy. Pięć niewrażliwych na kadm szczepów wykazywała również tolerancję na chlorek benzalkoniowy – w każdym przypadku odnotowano obecność genu *bcrABC* (Katharios-Lanwermyer i in. 2012).

Podsumowanie

Listeria monocytogenes jest groźnym patogenem obecnym w żywności. Surowe normy zawarte w Rozporządzeniu Komisji (WE) nr 2073/2015, stanowią o tym, że pałeczki *Listeria monocytogenes* muszą być nieobecne w 25 g produktu opuszczającego zakład produkcyjny.

W związku z tym, zakłady przemysłu spożywczego, są zmuszone do stosowania skutecznych środków dezynfekcyjnych. Długotrwała ekspozycja drobnoustrojów na dany środek chemiczny, będący dla nich czynnikiem stresowym, zmusiła je do wykształcenia mechanizmów obronnych. Uzyskane wyniki pokazały, że część analizowanych szczepów posiadała geny, które odpowiedzialne są za oporność na chlorek benzalkoniowy i chlorek kadmu. Z dostępnej literatury wiadomo, że geny te znajdują się na plazmidach i mogą być przekazywane na drodze horyzontalnego transferu genów, co oznacza, że szerzenie się oporności na analizowane środki chemiczne, może stanowić w przyszłości coraz większy problem. Jest to realne zagrożenie dla konsumentów i zarazem wyzwanie dla zakładów przetwórstwa żywności, aby na bieżąco kontrolować wrażliwość mikroorganizmów na stosowane dezynfekanty.

Literatura

- Chojecka A., Jakimiak B., Röhm-Rodowald E., Podgórska M. 2010. *Wpływ substancji antybakteryjnych na rozprzestrzenianie się oporności bakterii*. Przegl. epidemiol., 64: 513-517.
- Cichocka A., Skotarczak B. 2002. *Nowe metody wykrywania *Listeria monocytogenes* w żywności*. Med. Weter., 58: 756-759.
- Doumith M., Buchrieser C., Glaser P., Jacquet C., Martin P. 2004. *Differentiation of the Major *Listeria monocytogenes* Serovars by Multiplex PCR*. J. Clin. Microbiol., 42: 3819-3822.
- Dutta V., Elhanafi D., Kathariou S. 2013. *Conservation and Distribution of the Benzalkonium Chloride Resistance cassette bcrABC in *Listeria monocytogenes**. Appl. Environ. Microbiol., 19: 6067-6074.
- Elhanafi D., Dutta V., Kathariou S. 2010. *Genetic characterization of plasmid-associated benzalkonium chloride resistance determinants in a *Listeria monocytogenes* strain from the 1998-1999 outbreak*. Appl. Environ. Microbiol., 79: 2451-2457.
- Gliński Z., Kostro K. 2012. *Listerioza współczesnym zagrożeniem*. Życie wet., 87: 577-581.
- Jiang X., Yu T., Liang Y., Shengdong J., Guo X., Jianmin M., Zhou L. 2016. *Efflux pump-mediated benzalkonium chloride resistance in *Listeria monocytogenes* isolated from retail food*. Int. J. Food Microbiol., 217: 141-145.
- Lachtara B., Wieczorek K., Osek J. 2016. *Molekularne metody wykrywania *Listeria monocytogenes* w żywności*. Med. Weter., 72: 12-17.
- Lee S., Rakic-Martinez M., Graves L. M., Ward T. J., Siletzky R. M., Kathariou S. 2013. *Genetic Determinants for Cadmium and Arsenic Resistance among *Listeria monocytogenes* Serotype 4b Isolates from Sporadic Human Listeriosis Patients*. Appl. Environ. Microbiol., 7: 2471-2476.
- Katharios-Lanwermeyer S., Rakic-Martinez M., Elhanafi D., Ratani S., Tiedje J. M., Kathariou S. 2012. *Coselection of Cadmium and Benzalkonium Chloride Resistance in Conjugative Transfers from Nonpathogenic *Listeria* spp. to Other *Listeriae**. Appl. Environ. Microbiol., 78: 7549-7556.

- Korsak D., Szuplewska M. 2016. *Characterization of nonpathogenic Listeria species isolated from food and food processing environment*. Int. J. Food Microbiol., 238: 274-280.
- Krzyżewska E., Książczyk M., Kędziora A., Futoma-Kołoch B., Bugla-Płoskońska G. 2015. *Modyfikacje struktur komórkowych mikroorganizmów wywoływane działaniem biocydów*. Postępy Mikrobiol., 54: 380-391.
- Książczyk M., Krzyżewska E., Futoma-Kołoch B., Bugla-Płoskońska G., 2015. *Oddziaływanie związków dezynfekcyjnych na komórki bakteryjne w kontekście bezpieczeństwa higieny i zdrowia publicznego*. Postępy Hig. Med. Dośw. 69: 1042-1055.
- McLauchlin J., Mitchell R.T., Smerdon W.J., Jewell K. 2004. *Listeria monocytogenes and listeriosis: A review of hazard characterization for use in microbiological risk assessment of foods*. Int. J. Food Microbiol., 92: 15-33.
- Mullapudi S., Siletzky R. M., Kathariou S., 2010. *Diverse Cadmium Resistance Determinants in Listeria monocytogenes Isolates from the Turkey Processing Plant Environment*. Appl. Environ. Microbiol., 76: 627-630.
- Muskalska K., Szymczak B. 2005. *Postępy badań na bakteriami rodzaju Listeria*. Postępy Mikrobiol., 54: 123-132.
- Obłąk E., Gamian A. 2010. *Biologiczna aktywność czwartorzędowych soli amoniowych (CSA)*. Postępy Hig. Med. Dośw., 64: 201-211.
- Oleńska E., Małek W. 2013. *Mechanizmy oporności bakterii na metale ciężkie*. Post. Mikrobiol., 52: 363-371.
- Parsons C., Lee S., Jayeola V., Kathariou S. 2017. *Novel Cadmium Resistance Determinant in Listeria monocytogenes*. Appl. Environ. Microbiol., 83: e02580-16.
- Popowska M., Olszak M., Markiewicz Z. 2006. *Susceptibility of Listeria monocytogenes Strains Isolated from Dairy Products and Frozen Vegetables to Antibiotics Inhibiting Murein Synthesis and to Disinfectants*. Pol. J. Microbiol., 4: 279-288.
- Rozporządzenie Komisji (WE) nr 2073/2005 z dnia 15 listopada 2005 r. w sprawie kryteriów mikrobiologicznych dotyczących środków spożywczych. Dziennik Urzędowy Unii Europejskiej 2005., L 338: 1-26.
- Soumet C., Ragimbeau C., Maris P. 2005. *Screening of benzalkonium chloride resistance in Listeria monocytogenes strains isolated during cold smoked fish production*. Lett. Appl. Microb., 41: 291-296.
- Telesiński A., Śnioszek M., Biczak R., Pawłowska B. 2016. *Zagrożenia środowiskowe i toksykologiczne wynikające ze stosowania czwartorzędowych soli amoniowych*. Kosmos. Problemy Nauk Biologicznych, 65: 495-502.
- Walczycka M. 2005. *Metody inaktywacji i hamowania wzrostu Listeria monocytogenes w przetworach mięsnych*. Żywność. Nauka, Technologia. Jakość, 43: 61-72.
- Wróblewska S., Misiewicz A. 2006. *Wykrywanie i identyfikacja Listeria monocytogenes w żywności*. Prace Instytutów i Laboratoriów Badawczych Przemysłu Spożywczego, 61: 91-101.
- Xu D., Li Y., Zahid M., Yamasaki S., Shi L., Li J., Yan H. 2014. *Benzalkonium chloride and heavy-metal tolerance in Listeria monocytogenes from retail foods*. Int. J. Food Microbiol., 190: 24-30.
- Zhang H., Zhou Y., Hongduo B., Zhang L., Wang. R., Zhou X. 2015. *Plasmid-borne cadmium resistant determinants are associated with the susceptibility of Listeria monocytogenes to bacteriophage*. Microbiol. Res., 172: 1-6.

Ocena stopnia zanieczyszczenia mleka i produktów mleczarskich aflatoksyną M₁

The assessment of the degree of aflatoxin M₁ pollution in milk and dairy products

Patryk Wiśniewski
Izabela Górecka

Uniwersytet Warmińsko – Mazurski w Olsztynie
Wydział Nauki o Żywności
Studenckie Koło Naukowe Higieny Żywności i Toksykologii
Opiekun: dr n. wet. inż. Magdalena Polak – Śliwińska

Abstract

The aim of the work presented in this article was to quantitative analysis of food by aflatoxin M₁ in raw milk coming from farms in the Kuyavian-Pomeranian Voivodship and dairy products.

The test material consisted of 17 samples of raw milk from 17 different farms and farm cheese obtained from stores and hypermarkets in Olsztyn, which were analyzed in three parallel replicates in respect of the presence of aflatoxin M₁.

The conducted tests have demonstrated the presence of aflatoxin M₁ in 7 out of 11 tested samples of raw milk and in 4 out of 7 samples of cheeses produced from unpasteurised milk. The amounts of AFM₁ measured in the studies do not exceed the maximum level.

Keywords: milk, dairy products, aflatoxin M₁

Wprowadzenie

Produkty mleczarskie cieszą się bardzo dużą popularnością wśród ludzi w każdym wieku. Niezwykle ważnym aspektem w badaniu mleka surowego oraz produktów mleczarskich jest prowadzenie kontroli mikrobiologicznej i toksykologicznej. Drobnoustroje chorobotwórcze (patogenne) oraz pleśnie rozwijające się w wyżej wymienionych produktach, prowadząc swój metabolizm, mogą wytwarzać substancje toksyczne dla ludzi, tj. eneterotoksyny czy mikotoksyny – w przypadku grzybów toksynotwórczych. Spożywanie produktów zanieczyszczonych toksynami, negatywnie wpływa na zdrowie a także życie ludzi, w szczególności osób z obniżoną odpornością organizmu (Matusiak 2017).

Mikotoksyny są produktami wtórnego metabolizmu pleśni, które należą głównie do rodzajów *Aspergillus* (np. *Aspergillus flavus* i *Aspergillus parasiticus*), *Penicillium* i *Fusarium*. Charakteryzują się niską masą cząsteczkową, słabą polarnością oraz termostabilnością. Metabolity te stanowią poważne zagrożenie dla zdrowia

ludzi i zwierząt – cechują się właściwościami kancerogennymi, mutagennymi oraz teratogennymi (Chełkowski 2010; Stanisławczyk i in. 2010).

Do mikotoksyn zaliczamy ponad 300 substancji, wśród których wymienia się m.in. aflatoksyny, ochratoksynę A, patulinę, trichotecyny oraz sterigmatocystynę. Rozpowszechnione są w wielu produktach, takich jak: zboża i przetwory zbożowe, orzechy, herbata, kawa, suszone owoce, piwo oraz mleko i przetwory mleczarskie (Stanisławczyk i in. 2010).

Aflatoksyny (wytwarzane głównie przez *Aspergillus flavus* i *Aspergillus parasiticus*) zostały wyodrębnione ze środowiska, ze względu na charakterystyczną budowę chemiczną i wynikające z niej swoiste właściwości chemiczne. Wśród nich najsilniejsze działanie biologiczne wykazują m.in. aflatoksyna B₁ i B₂, aflatoksyna G₁, a także aflatoksyna M₁. Aflatoksyna M₁ jest metabolitem hydroksylowym aflatoksyny B₁ i B₂, występującym w mleku i produktach mleczarskich (Barbosa i in. 2011). Taki metabolizm zachodzi w organizmie krowy skarmianej zanieczyszczoną paszą – powstały metabolit wydalany jest z mlekiem (Kowalska i in., 2017). Zauważalna jest tendencja wzrostu zawartości toksyny w mleku, pochodzącym od krów z okresu żywienia zimowego.

Aflatoksyna M₁ (AFM₁) w mleku oraz w produktach mleczarskich jest trwała i nie ulega rozkładowi podczas operacji termicznych stosowanych w przemyśle mleczarskim – pasteryzacja i sterylizacja UHT – oraz w dalszych etapach produkcyjnych (Brodziak i in. 2017). AFM₁, dostarczona wraz z produktem żywnościowym do organizmu człowieka, może powodować uszkodzenie DNA, co ostatecznie prowadzi do anomalii chromosomowych oraz mutacji genów w komórkach ssaków. Podczas wykorzystania w żywieniu była mlecznego zanieczyszczonej paszy, metabolit, jakim jest AMF₁, będzie obecny w mleku przez ok. 2 – 3 dni po jej spożyciu (Prandini i in. 2009). Metabolizm aflatoksyny B₁ (AFB₁) do AFM₁ w organizmie zwierząt i przeniesienie do mleka, zależy od wielu zmiennych – głównie od czynników fizjologicznych i odżywczych, do których zalicza się rodzaj i sposób karmienia, ogólny stan zdrowia zwierząt, zdolności biotransformacji toksyn w wątrobie, a także zdolności wytwarzania mleka (Duarte i in. 2013).

Różnice stężeń AFM₁ w mleku surowym i produktach mleczarskich, w różnych krajach zależne są od: położenia geograficznego, klimatu, sposobu przechowywania paszy dla zwierząt, czy też zastosowania Dobrej Praktyki Higienicznej (GHP) w produkcji (Duarte i in. 2013; Rahimi i in. 2010).

Badania odnośnie zawartości aflatoksyn (w tym aflatoksyny M₁) w produktach mleczarskich są niezwykle ważne. Niewątpliwie ważnym aspektem jest konieczność ciągłego nadzorowania surowca a także środków spożywczych obecnych w handlu detalicznym (Kowalska i in. 2017).

Cel pracy

Celem pracy była ocena zanieczyszczenia mleka surowego, pochodzącego z gospodarstw rolnych na terenie województwa kujawsko – pomorskiego oraz serów, wyprodukowanych z mleka niepasteryzowanego aflatoksyną M₁.

Materiał badań

Materiał do badań stanowiły próbki mleka surowego pochodzącego z 17 różnych gospodarstw rolnych (n = 17) oraz sery zagrodowe, wyprodukowane z mleka niepasteryzowanego (n = 7) pozyskane ze sklepów oferujących zdrową żywność i hipermarketów na terenie Olsztyna, które poddano analizie pod względem obecności aflatoksyny M₁. Oznaczenia przeprowadzono w 3 równoległych powtórzeniach.

Metodyka badań

Przygotowanie próbek mleka

Próbki mleka przygotowano zgodnie z normą PN-EN ISO 14501:2009. Odważono ok. 10 g próbki, z dokładnością do 0,001 g (badanego mleka), a następnie dodano 50 ml wody o temperaturze 20° C i starannie wymieszano. Ochłodzony do temperatury 20° C roztwór, przeniesiono do kolby miarowej o pojemności 100 ml i uzupełniono wodą do kreski. Po starannym wymieszaniu, próbkę wirowano przez 20 minut z prędkością 2000 obrotów na minutę. Następnie pobrano 50 ml powstałej po wirowaniu dolnej warstwy (odtłuszczonej) próbki i przepuszczono przez kolumnkę powinowactwa immunologicznego AflaStarM₁™ firmy Romer Labs®, która była podłączona do systemu próżniowego. Podczas przepuszczania próbki przez kolumnkę, zachowano stałą prędkość przepływu (2-3 ml na minutę). Złoże kolumnki przemyto 10 ml wody destylowanej, przy zachowaniu równomiernej objętości przepływu, a następnie osuszono. Aflatoksynę M₁ eluowano przy pomocy 4 ml czystego acetonitrylu. Rozpuszczalnik odparowano przy użyciu aparatu do zatężania ekstraktów z łaźnią wodną o temperaturze 30°C, z jednoczesnym suszeniem w strumieniu azotu. Suchą pozostałość rozpuszczono w 75% roztworze acetonitrylu. Tak przygotowaną próbę poddano analizie HPLC

z derywatyzacją pokolumnową. Odczynnikiem do tworzenia pochodnej, był wodny roztwór I₂ o stężeniu 100 mg/dm³.

Przygotowanie próbek serów

Próbki serów przygotowano w oparciu o metodykę opisaną przez Elgerbi i in. (2004). Próbkę sera o masie około 10 g, z dokładnością do 0,001 g doprowadzono do postaci małych kawałków i poddano blendowaniu przez 10 min. z dodatkiem 80 ml dichlorometanu (Merck Chemicals) oraz 7 g ziemi krzemkowej. Otrzymany roztwór poddano sączeniu. Po sączeniu do próbki dodano 40 ml dichlorometanu i ponownie poddano sączeniu. Uzyskane przesącza połączono i odparowano w wyparce obrotowej (40°C). Uzyskaną pozostałość rozpuszczono w 1 ml metanolu, 30 ml wody i 50 ml n – heksanu, po czym przeniesiono do rozdzielacza. Powstałe fazy – wodną oraz organiczną (heksanową), przemyto dwukrotnie 10 ml wody. Po przemywaniu zebrano fazę wodną. Następnie pobraną warstwę wodną oczyszczono z zastosowaniem kolumnienek powinowactwa immunologicznego AflaStarM₁™ firmy Romer Labs®. Aflatoksynę M₁ eluowano przy pomocy 1 ml czystego acetonitrylu. Rozpuszczalnik odparowano przy użyciu aparatu do zatężania ekstraktów firmy Cobrabid. Suchą pozostałość rozpuszczono w 75% roztworze acetonitrylu. Tak przygotowaną próbę, poddano analizie HPLC z derywatyzacją pokolumnową. Odczynnikiem do tworzenia pochodnej był wodny roztwór I₂ o stężeniu 100 mg/dm³.

Wyniki i dyskusja

Wykonane analizy miały na celu określenie, czy surowe mleko pochodzące od rolników, a także sery wyprodukowane z mleka niepasteryzowanego, zawierają aflatoksynę M₁, która stanowi poważne zagrożenie zdrowotne dla konsumentów. Przeprowadzone badania miały wskazać, czy surowiec oraz produkty z niego wytworzone (sery niepasteryzowane), posiadają odpowiednią jakość zdrowotną w odniesieniu do jednej z substancji, będącej wynikiem wtórnego metabolizmu grzybów toksynotwórczych.

Zgodnie z wynikami przedstawionymi w tabeli 1, z 17 przebadanych próbek mleka surowego, w 7 z nich uzyskano wynik pozytywny względem obecności w nich AFM₁, co stanowi 41,18% próbek pozytywnych. Najwyższy poziom aflatoksyny M₁ odnotowany dla mleka surowego, wynosił 0,0212 µg/dm³, natomiast najniższy poziom w mleku surowym wynosił 0,0038 µg/dm³. Wartości średnie w próbkach mleka surowego były na poziomie 0,010±0,006 µg/dm³. Z przeprowadzonych analiz wynika, iż żadna z badanych próbek mleka

surowego, pochodzącego z różnych gospodarstw rolnych, nie przekroczyła najwyższego dopuszczalnego poziomu (NDP) ustalonego w obowiązującym rozporządzeniu ($<0,050 \mu\text{g}/\text{dm}^3$) (WE NR 1881/2006; UE NR 165/2010). Poziom AFM₁ w próbkach mleka surowego poniżej NDP, świadczy o bezpieczeństwie stosowania mleka w produkcji mleczarskiej.

W tabeli 1 przedstawiono również wyniki analiz próbek serów niepasteryzowanych. W czterech z siedmiu próbek serów wyprodukowanych z niepasteryzowanego mleka, wykryto obecność AFM₁ – stanowi to 57,14% próbek pozytywnych. Najwyższy poziom analizowanej toksyny w badanych serach wynosił $0,0317 \mu\text{g}/\text{kg}$, natomiast najniższy $0,0026 \mu\text{g}/\text{kg}$. Wartości średnie kształtowały się na poziomie $0,0157 \pm 0,0024 \mu\text{g}/\text{kg}$. Obecność AFM₁ w badanych próbkach serów świadczy o tym, iż zostały one wyprodukowane z mleka surowego zanieczyszczonego analizowaną toksyną.

Tabela 1. Średnie stężenie aflatoksyny M₁ w mleku surowym oraz serach zagrodowych

Produkt	Liczba próbek pozytywnych/Liczba próbek badanych (n)	Udział % próbek pozytywnych	Zawartość AMI w próbkach pozytywnych (Wartość śr.+RSD) (Min.-Max.) [$\mu\text{g}/\text{dm}^3$]	Liczba próbek $> 0,050$ [$\mu\text{g}/\text{dm}^3$]
Mleko surowe	7/17	41,18%	$0,010 \pm 0,006$ (0,0038 – 0,0212)	0
Sery niepasteryzowane	4/7	57,14%	$0,0157 \pm 0,0024$ (0,0026 – 0,0317)	0

Źródło: Opracowanie własne

Badania odnośnie występowania AFM₁ w mleku surowym oraz produktach mleczarskich, prowadzone są nie tylko w Europie, ale także w pozostałych rejonach świata. Świadczy to o tym, iż jest to problem ogólnoświatowy, szczególnie istotny dla określonych regionów geograficznych o klimacie tropikalnym i subtropikalnym a także dla tych, do których produkty z regionów wyżej wymienionych, są importowane. Z badań własnych wynika, iż uzyskano 41,18% próbek pozytywnych, co jest wynikiem wyższym niż w badaniach przeprowadzonych w Nowej Zelandii (0%), Wielkiej Brytanii (3%), Chinach (4,7%), Egipcie (38%), Maroku (27,1%) (NZFSA, 2012; UKFSA, 2001; Li i in., 2017; Amer i Ibrahim, 2010; El Marnissi i in., 2012). W krajach takich jak: Brazylia, Chorwacja, Indonezja, Iran, Włochy, Liban, Nigeria, Pakistan i Sudan, uzyskano większą liczbę pozytywnych próbek, odpowiednio: 100%, 46,1%, 57,5%, 100%, 100%, 73,7%, 75%, 71% i 95,5% (Almeida i in. 2013; Bilandzic i in. 2014; Nuryono i in. 2009; Sani i in. 2010; Manetta

i in. 2009; Assem i in. 2011; Oluwafemi i in. 2014; Iqbal i Asi 2013; Elzupir i Elhussein 2010). W badaniach własnych, nie odnotowano przypadku w analizie próbek mleka surowego, w którym zanieczyszczenie AFM₁ przekraczało dopuszczalny limit ustanowiony w Rozporządzeniu Komisji (WE) NR 1881/2006 – 0,05 µg/dm³. Podobne wyniki uzyskano w badaniach przeprowadzonych w Nowej Zelandii, Wielkiej Brytanii i Indonezji (NZFSA 2012; UKFSA 2001; Nuryono i in. 2009). W Chinach 1,1% próbek mleka surowego przekroczyło limit prawny UE, natomiast próbki analizowane w pozostałych krajach – Brazylii, Chorwacji, Egipcie, Iranie, we Włoszech, Libanie, Maroku, Nigerii, Pakistanie i Sudanie wynosiły odpowiednio: 14,0%, 27,8%, 20,0%, 80,6%, 44,0%, 44,7%, 8,3%, 48,0%, 58,0% i 83,3% (Li i in., 2017; Almeida i in. 2013; Bilandzic i in. 2014; Amer i Ibrahim 2010; Sani i in. 2010; Manetta i in. 2009; Assem i in. 2011; El Marnissi i in. 2012; Oluwafemi i in. 2014; Iqbal i Asi 2013; Elzupir i Elhussein 2010).

Produkty mleczarskie, takie jak sery, są narażone na zanieczyszczenie aflatoksyną M₁. Występowanie toksyny może wynikać m.in. z zastosowania mleka surowego zanieczyszczonego AFM₁. W badaniach własnych stwierdzono 57,14% próbek pozytywnych. Badania prowadzone przez Amer i Ibrahim (2010) wykazały, iż w 100% próbek serów miękkich, wykryto AFM₁ na poziomie nie przekraczającym NDP. Wyniki badań Nilchian i Rahimi (2012), Bakirci (2001) i Deveci (2007) wskazują, że poziom AFM₁ w serze, zależy od rodzaju sera, poszczególnych operacji jednostkowych, zachodzących podczas procesu produkcyjnego oraz ilości wody usuniętej podczas produkcji. Wyniki badań prowadzonych przez Cavallarin i in. (2014) zobrazowały fakt, że dla poszczególnych metod produkcji serów, w przypadku stosowania mleka surowego, w którym zawartość aflatoksyny M₁ nie przekracza NDP, zawartość tej toksyny w gotowym serze spełniała wymagania UE.

W związku ze stwierdzeniem obecności toksyny, jaką jest AFM₁ zarówno w badaniach własnych, jak również w badaniach przeprowadzanych w Polsce, Europie oraz na świecie, pomimo istniejącego niebezpieczeństwa związanego ze spożyciem żywności zanieczyszczonej aflatoksynami oraz aspektem wdrażania programów, mających na celu polepszenie bezpieczeństwa zdrowotnego żywności, problem występowania tych związków nadal istnieje. Należy podjąć kroki zmierzające do zaostrzenia kontroli, zwiększenia ilości pobieranych próbek pasz i mleka surowego. Aby zapewnić bezpieczeństwo mleka surowego oraz produktów z niego wytwarzanych, należy prowadzić akcje, mające na celu uświadamianie hodowców, dostawców pasz a także osób zaangażowanych w produkcję mleczarską,

o szkodliwości, jaką niesie za sobą występowanie aflatoksyny M₁ (Polak – Śliwińska i in. 2016; Li i in. 2017; Campagnollo i in., Iqbal i in. 2015).

Podsumowanie

Przeprowadzone badania potwierdziły występowanie aflatoksyny M₁ w analizowanych próbkach mleka surowego oraz w serach wyprodukowanych z mleka niepasteryzowanego. Oznaczone w badaniach ilości AFM₁, nie przekraczały najwyższego dopuszczalnego poziomu (NDP), jednakże aż w 7 z 11 próbek mleka i w 4 z 7 próbek sera stwierdzono obecność tego związku. Z uwagi na to, że może to stanowić potencjalne zagrożenie dla konsumentów, gospodarstwa rolne, z których pozyskano mleko zanieczyszczone aflatoksyną M₁, powinny być kontrolowane w celu wykrycia przyczyny pojawiania się tej niebezpiecznej substancji.

Literatura

- Almeida Picinin, L. C., Oliveira Pinho Cerqueira, M. M., Vargas, E. A., Quintao Lana, A. M., Toaldo, I. M., & Bordignon-Luiz, M. T., 2013, *Influence of climate conditions on aflatoxin M1 contamination in raw milk from Minas Gerais State, Brazil*. Food Control, 31(2): 419-424.
- Amer, A. A., & Ibrahim, M. E., 2010, *Determination of aflatoxin M1 in raw milk and traditional cheeses retailed in Egyptian markets*. Journal of Toxicology and Environmental Health Sciences, 2(4): 50-52.
- Assem, E., Mohamad, A., & Oula, E. A., 2011, *A survey on the occurrence of aflatoxin M1 in raw and processed milk samples marketed in Lebanon*. Food Control, 22(12): 1856-1858.
- Bakirci, I., 2001, *A study on the occurrence of aflatoxin M1 in milk and milk products produced in Van province of Turkey*. Food Control: 12, 47-51.
- Bilandzic, N., Bozic, D., Dokic, M., Sedak, M., Kolanovic, B. S., Varenina, I. 2014, *Seasonal effect on aflatoxin M1 contamination in raw and UHT milk from Croatia*. Food Control, 40: 260-264.
- Brodziak A., Król J., Nowaczek A., 2017, *Naturalne substancje pochodzenia roślinnego negatywnie oddziałujące na zdrowie krów oraz jakość mleka*, ŻYWNOSĆ. Nauka. Technologia. Jakość, 2017, 24, 1 (110): 33 – 47.
- Campagnollo, F. B., Ganev, K. C., Khaneghah, A. M., Portela, J. B., Cruz, A. G., Granato, D. 2016. *The occurrence and effect of unit operations for dairy products processing on the fate of aflatoxin M 1: A review*. Food Control, 68: 310-329.
- Cavallarin L., Antoniazzi S., Giaccone D., Tabacco E. 2014. *Transfer of aflatoxin M1 from milk to ripened cheese in three Italian traditional production methods*, Food Control 38: 174-177.
- Chełkowski J., 2010, *Mikotoksyny, grzyby toksynotwórcze i mikotoksykozy*, Wersja on-line.

- Deveci, O., 2007, *Changes in the concentration of aflatoxin M1 during manufacture and storage of White Pickled cheese*. Food Control, 18: 1103-1107.
- Duarte, S. C., Almeida, A. M., Teixeira, A. S., Pereira, A. L., Falcão, A. C., Pena, A. 2013. *Aflatoxin M1 in marketed milk in Portugal: assessment of human and animal exposure*. Food Control, 30: 411-417.
- El Marnissi, B., Belkhou, R., Morgavi, D. P., Bennani, L., & Boudra, H., 2012, *Occurrence of aflatoxin M1 in raw milk collected from traditional dairies in Morocco*. Food and Chemical Toxicology, 50(8): 2819-2821.
- Elzupir, A. O., & Elhoussein, A. M., 2010, *Determination of aflatoxin M1 in dairy cattle milk in Khartoum State, Sudan*. Food Control, 21(6): 945-946.
- Iqbal, S. Z., Paterson, R., Bhatti, I. A., & Asi, M. R., 2010, *Survey of aflatoxins in chillies from Pakistan produced in rural, semi-rural and urban environments*. Food Additives and Contaminants, 3(4): 268-274.
- Kowalska A., Walkiewicz K., Kozieł P., Muc-Wierzgoń M., 2017, *Aflatoksyny – charakterystyka i wpływ na zdrowie człowieka*, Postępy Hig Med Dosw (online), 71: 315-327.
- Li, S., Min, L., Wang, P., Zhang, Y., Zheng, N., & Wang, J., 2017, *Aflatoxin M1 contamination in raw milk from major milk-producing areas of China during four seasons of 2016*. Food Control, 82: 121–125.
- M.H., Barbosa C.B. Okada I.A., Trucksess M.W.: *Occurrence of aflatoxin M1 in dairy products in Brazil*. Food Control, 2011; 22: 1971-1974.
- Manetta, A. C., Giammarco, M., Di Giuseppe, L., Fusaro, I., Gramenzi, A., Formigoni, A. 2009, *Distribution of aflatoxin M-1 during Grana Padano cheese production from naturally contaminated milk*. Food Chemistry, 113(2): 595-599.
- Matusiak D. M., 2017, *Zagrożenia wynikające z obecności drobnoustrojów chorobotwórczych i ich toksyn w produktach mlecznych*, Journal of Health Study and Medicine, nr 2: 55-76.
- Nilchian, Z., & Rahimi, E., 2012, *Aflatoxin M1 in yoghurts, cheese and ice-cream in Shahrekord-Iran*. World Applied Sciences Journal, 19: 621-624.
- Nuryono, N., Agus, A., Wedhastri, S., Maryudani, Y. B., Setyabudi, F. M. C. S., Boehm, J. 2009. *A limited survey of aflatoxin M1 in milk from Indonesia by ELISA*. Food Control, 20(8): 721-724.
- Oluwafemi, F., Badmos, A. O., Kareem, S. O., Ademuyiwa, O., & Kolapo, A. L., 2014, *Survey of aflatoxin M-1 in cows' milk from free-grazing cows in Abeokuta, Nigeria*. Mycotoxin Research, 30(4): 207-211.
- Polak – Śliwińska M., Śliwiński M., Paszczyk B., Kubiak M. S., 2016, *Ocena stopnia zanieczyszczenia aflatoksyny M1 żywności tradycyjnej, regionalnej i konwencjonalnej na przykładzie wybranych produktów spożywczych*, Postępy Techniki Przetwórstwa Spożywczego, Nr 2: 83 – 88.
- Prandini, A., Tansini, G., Sigolo, S., Filippi, L., Laporta, M., & Piva, G., 2009, *On the occurrence of aflatoxin M1 in milk and dairy products*. Food and Chemical Toxicology, 47: 984-991.

- Rahimi, E., Bonyadian, M., Rafei, M., & Kazemeini, H. R., 2010, *Occurrence of aflatoxin M1 in raw milk of five dairy species in Ahvaz, Iran*. Food and Chemical Toxicology, 48: 129-131.
- ROZPORZĄDZENIE KOMISJI (UE) NR 165/2010 z dnia 26 lutego 2010 r. zmieniające rozporządzenie (WE) nr 1881/2006, ustalające najwyższe dopuszczalne poziomy niektórych zanieczyszczeń w środkach spożywczych w odniesieniu do aflatoksyn.
- ROZPORZĄDZENIE KOMISJI (WE) NR 1881/2006 z dnia 19 grudnia 2006 r. ustalające najwyższe dopuszczalne poziomy dla niektórych zanieczyszczeń w środkach spożywczych.
- Sani, A. M., Nikpooyan, H., & Moshiri, R., 2010, *Aflatoxin M-1 contamination and antibiotic residue in milk in Khorasan province, Iran*. Food and Chemical Toxicology, 48(8e9): 2130-2132.
- Stanisławczyk R., Rudy M., Świątek B., 2010, *Występowanie mikotoksyn w zbożach i przetworach zbożowych znajdujących się w placówkach handlowych województwa podkarpackiego*, ŻYWNOSĆ. Nauka. Technologia. Jakość1, 2010, 6 (73): 58 – 66.

Biotechnologiczna synteza nanocząstek

Biotechnological synthesis of nanoparticles

Sylwia Michałowska
Ewa Wałowska
Anatoli Sementovich

Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie
Katedra Biotechnologii Żywności
Studenckie Koło Naukowe Biotechnologów Żywności
Opiekun: dr hab. Marek Adamczak, prof. UWM

Abstract

Nanotechnology is an intensively developing area of science. Nanoparticles are particles of which at least one of the three spatial dimensions is less than 100 nm. The aim of the experiment was biotechnological synthesis of nanoparticles. This method is more environmentally-friendly than the commonly used physical and chemical methods for producing nanoparticles.

In laboratory conditions, it was demonstrated the applicability of the aqueous extracts of plant material, including banana peel (*Musa L.*) for the biosynthesis of nanoparticles of copper, selenium and zinc. The chemical compounds contained in the extracts of oregano, willow bark, hawthorn, goldenrod and banana peel catalyzed bioreduction reaction used salts of copper, zinc and selenium.

This eco-friendly method of nanoparticle synthesis can be a competitive alternative to conventional physical and chemical methods of obtaining them.

Keywords: bioreduction, biosynthesis, biotechnology, nanotechnology, nanoparticle

Wstęp

Nanotechnologia (nanobiotechnologia) należy do najszybciej rozwijających się współcześnie technologii o dużych możliwościach zastosowania (King i in. 2018). Zakres nanotechnologii obejmuje otrzymywanie i stosowanie materiałów, struktur i urządzeń o nanometrowych wymiarach. Nanocząstki są definiowane jako obiekty, których przynajmniej jeden z trzech wymiarów przestrzennych, jest mniejszy niż 100 nm (Jeevanandami in. 2018). W nanoskali istotnym czynnikiem jest stosunek objętości do powierzchni (Pathakotii in. 1985). Nanocząsteczki znalazły zastosowanie w przemyśle chemicznym, tekstylnym, elektronicznym, medycznym, kosmetycznym, optycznym i spożywczym (Chaudhryi in. 2018, Saratale i in. 2018). Duże zainteresowanie nanomateriałami wynika z ich unikatowych optycznych, magnetycznych, elektrycznych oraz chemicznych właściwości (Kaushik i Thakkar 2010).

Nanomateriały mogą wykazywać zmienione właściwości spektroskopowe, magnetyczne, strukturalne i biologiczne (Wagner 2006).

Technologie przyjazne środowisku, zielone technologie są coraz bardziej popularne i potrzebne ze względu na problemy związane ze środowiskiem (Thuesombat i in. 2014). Dostępnych jest wiele technik syntezy nanocząstek, takich jak napyłanie jonowe, redukcja chemiczna, itp. Te metody charakteryzują się wysokimi kosztami produkcji nanocząstek jak i szkodliwym sposobem ich wytwarzania (Chandran i in. 2006). Wiele metod syntezy nanocząstek, wymaga użycia niebezpiecznych dla środowiska substancji chemicznych lub promieniowania (Ahmed i Ikram 2015). Rozwój i promocja przyjaznych ekologicznie, nietoksycznych dla środowiska procedur syntezy nanocząstek, jest alternatywne wobec metod chemicznych i fizycznych (Saratalei in. 2018). Powszechnie wiadomo, że wiele mikroorganizmów: bakterie, promieniowce i grzyby syntezują nanocząsteczki metali (Maliszewska 2011). Zdolność taką wykazują również rośliny (Ghoshi in.2017, Ahmed i Ikram, 2015, Kharissovai in., 2013). Naturalne sposoby syntezy nanocząstek są łatwe w realizacji, jednoetapowe, tanie, przyjazne dla środowiska i stosunkowo powtarzalne a otrzymywany materiał jest stabilny (Mittali in. 2014, Maliszewska i in. 2009). Wykorzystanie środowiska wodnego i materiałów odnawialnych, jakimi są ekstrakty roślinne, umożliwia rozwój proekologicznych metod syntezy nanocząstek metali (Shoeibi i in. 2017).

Niniejsza praca miała na celu zastosowanie biotechnologicznej syntezy nanocząsteczek oraz ocenę ich właściwości.

Cel i metoda badawcza

Celem doświadczenia była biotechnologiczna synteza nanocząstek z wybranych ekstraktów roślinnych, w tym ekstraktu pozyskanego z odpadowej skórki z banana do biosyntezy nanocynku, nanoselenu i nanomiedzi.

Metody analityczne

Przygotowanie wodnych ekstraktów roślinnych

Użyto ekstraktów wodnych z głogu, karczocha, kory wierzby i tawuły, melisy, lukrecji, nawłoci, oregano, mniszka oraz dziurawca pochodzących od lokalnego producenta. Ekstrakty przygotowano w procesie ługowania materiału roślinnego z wodą w proporcji 1:10 (w/w), w 20-25°C przez 24 godziny. Wykorzystano również wodny ekstrakt ze skórki banana, który

przygotowano z 20 g rozdrobnionej skórki z banana przez gotowanie w 100°C przez 3-4 minuty w 100 cm³ wody dejonizowanej, a następnie powstały ekstrakt ostudzono i sączone przez watę.

Przygotowanie roztworów soli

Jako substratu użyto 3 mM roztwory wodne soli: octanu miedzi (II), siarczanu miedzi (II) pięciowodnego, dichlorku cynku, siarczanu cynku siedmiowodnego, chlorku miedzi dwuwodnego oraz seleninu sodu. Stężenie soli wybrano na podstawie wstępnie przeprowadzonych doświadczeń podczas których stosowano stężenia 1, 3 i 5 mM.

Reakcja bioredukcji

Reakcję syntezy nanocząstek prowadzono w probówkach o pojemności 50 cm³, stosując 5cm³ odpowiedniego roztworu soli oraz 25 cm³ ekstraktu, następnie probówki. Reakcję bioredukcji prowadzono przez 24 godziny w 40°C z zastosowaniem mieszania z prędkością 200 obr/min bez dostępu do światła.

Kontrola kinetyki syntezy nanocząstek i ich właściwości

W trakcie prowadzenia reakcji bioredukcji, dokonywano analizy spektrofotometrycznej oraz pomiaru kwasowości czynnej co 15 minut przez 3 godziny oraz po 24 godzinach. Absorbancję mierzono w zakresie długości fali 350-800 nm, natomiast pomiar kwasowości czynnej wykonano za pomocą pH-metru.

Morfologię nanocząstek oraz ich identyfikację prowadzono z użyciem technik mikroskopowych. Próbki po reakcji, dwukrotnie płukano wodą dejonizowaną a następnie nanocząstki zawieszono w wodzie dejonizowanej i wykorzystano do obserwacji. Prowadzono obserwacje z użyciem: mikroskopu skaningowego (SEM) oraz mikroskopu skaningowego ze spektrometrem rentgenowskim (SEM EDX) oraz mikroskopu sił atomowych (AFM).

Pomiar rozkładu wielkości cząstek wykonano metodą dynamicznego rozpraszania światła (DLS) z użyciem analizatora Zetasizer S90 (Malvern), po 24 godzinach.

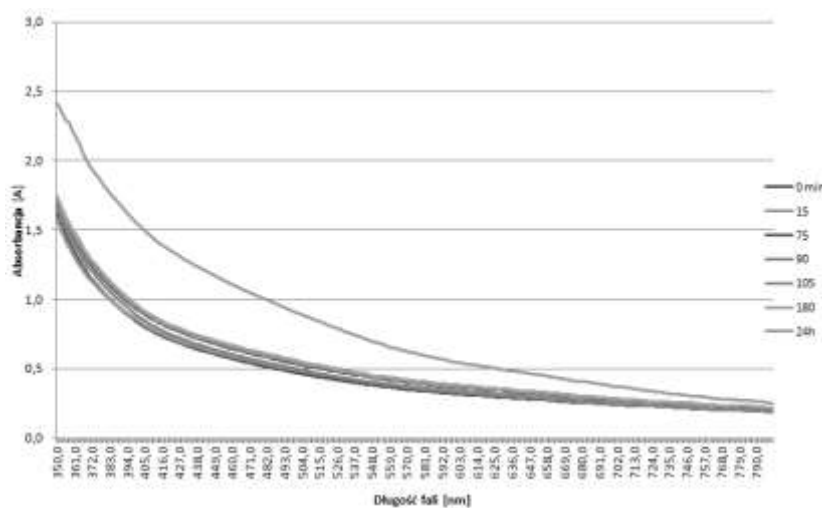
Wszystkie doświadczenia przeprowadzono w co najmniej 3 niezależnych powtórzeniach.

Wyniki badań

Na rysunkach 1-4 przedstawione zostały zmiany widma absorpcji próbek podczas syntezy nanocząstek miedzi, selenu i cynku. Synteza nanocząsteczek, miała miejsce już po

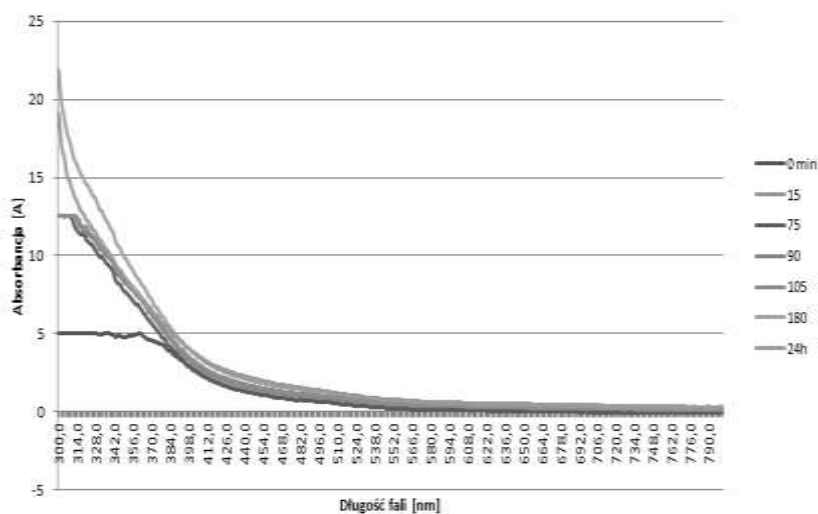
pierwszych 15 min reakcji, a im dłuższy czas reakcji, tym więcej cząstek powstawało w mieszaninie reakcyjnej. Kontrola kwasowości mieszaniny reakcyjnej, która miała na celu stwierdzenie niepożądanego rozwoju drobnoustrojów w mieszaninie reakcyjnej, wykazała tylko niewielkie zmiany kwasowości (dane nieprezentowane). W wyniku przeprowadzonych doświadczeń stwierdzono, iż we wszystkich mieszaninach reakcyjnych, syntezowane były nanocząstki. Podczas syntezy nanocząstek zaobserwowano zmianę barwy mieszaniny reakcyjnej, co świadczyło o powstawaniu nanocząstek. Intensywność barwy zwiększała się wraz z czasem inkubacji (dane nieprezentowane).

Rysunek 1. Zmiana widma absorpcji mieszaniny soli pięciowodnego siarczanu miedzi(II) z ekstraktem ze skórki z banana



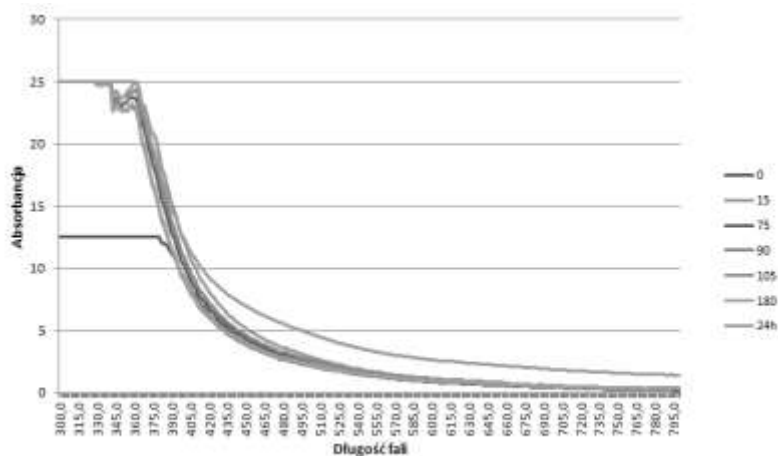
Źródło: Opracowanie własne.

Rysunek 2. Zmiana widma absorpcji mieszaniny chlorek cynku z ekstraktem z dziurawca



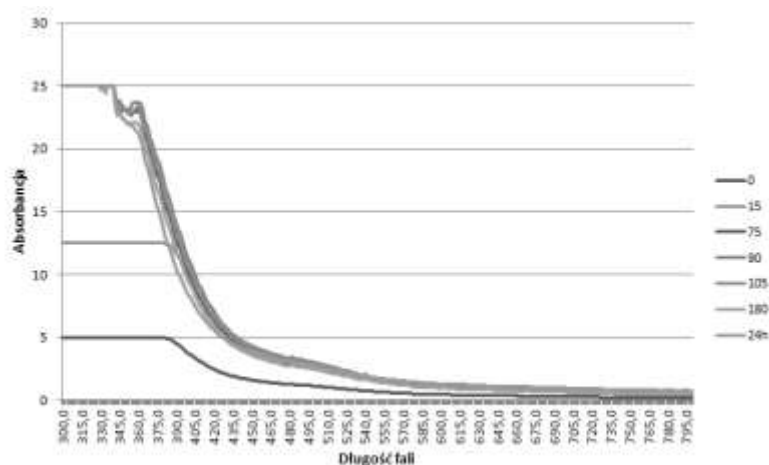
Źródło: Opracowanie własne.

Rysunek 3. Zmiana widma absorpcji mieszaniny seleninu sodu z ekstraktem z nawłoci



Źródło: Opracowanie własne.

Rysunek 4. Zmiana widma absorpcji mieszaniny seleninu sodu z ekstraktem z głogu



Źródło: Opracowanie własne.

Tabela 1. Analiza średnicy hydrodynamicznej nanocząstek otrzymanych w wyniku bioredukcji

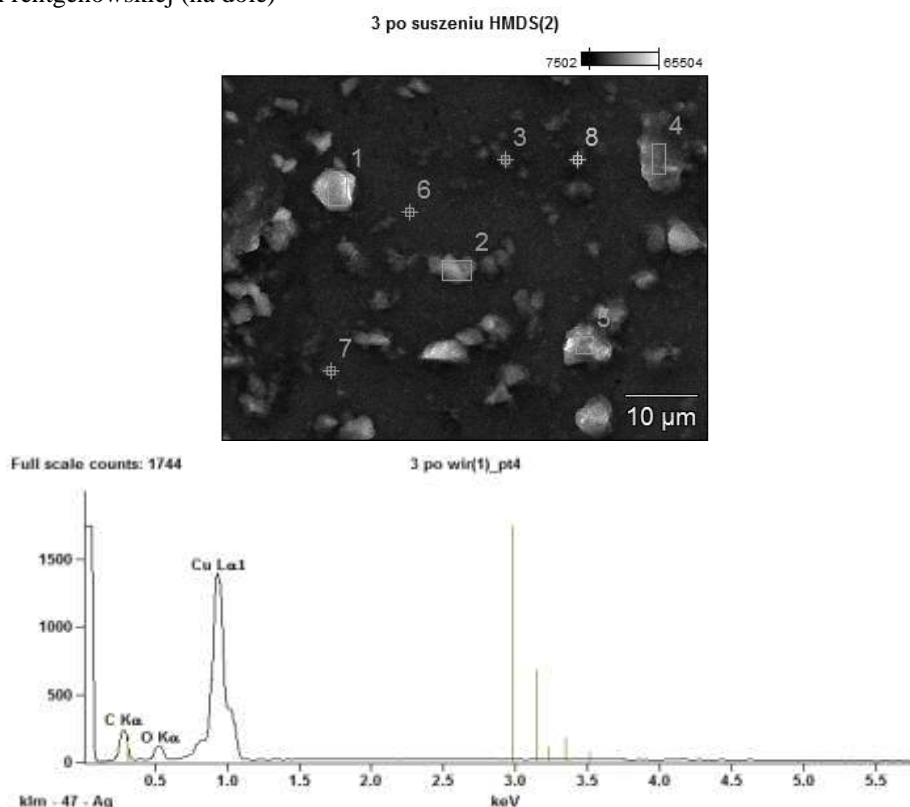
Surowiec	Oregano	Wierzba	Oregano	Kora wierzby	Skórka banana	Skórka banana
Rodzaj substratu	$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	$\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	$\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	$\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$
Średnica cząstek [nm]	366	346,2	362	895,2	475,5	763,4
Średnica głównej frakcji	274,1	285,5	235,6	187,1	282,2	137,9

Surowiec	Skórka banana	Głóg	Nawłóć	Oregano	Kora wierzby	Skórka banana
Rodzaj substratu	CuCl ₂	Na ₂ SeO ₃ · 5H ₂ O	Na ₂ SeO ₃ · 5H ₂ O	Na ₂ SeO ₃ · 5H ₂ O	Na ₂ SeO ₃ · 5H ₂ O	Na ₂ SeO ₃ · 5H ₂ O
Średnica cząstek [nm]	810,3	508	381,8	269,3	381,4	377
Średnica głównej frakcji	372,8	345,2	262,2	183,3	474	611

Źródło: opracowanie własne

Do pomiaru rozkładu wielkości cząstek użyto metody dynamicznego rozpraszania światła. Analiza rozmiaru nanocząstek, otrzymanych z użyciem wybranych ekstraktów, wskazuje na ich zróżnicowaną wielkość o średnicy w granicach 260,3-895,2nm (tabela 1).

Rysunek 5. Przykładowy obraz mikroskopowy nanocząstek otrzymanych w mieszaninie dwuwodnego chlorku miedzi(II) z ekstraktem z oregano (u góry) oraz potwierdzenie identyfikacji nanocząstek miedzi z użyciem spektroskopii rentgenowskiej (na dole)

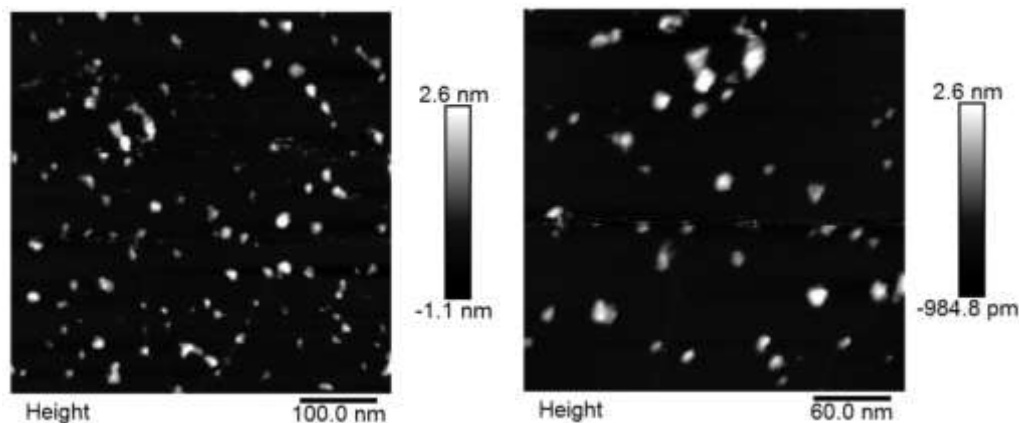


Źródło: opracowanie własne

Do określenia rozmiaru, kształtu i morfologii nanocząstek zastosowano skaningową mikroskopię elektronową (SEM), spektroskopię rentgenowską oraz mikroskopię sił atomowych. Nanocząstki miedziane nie ulegały aglomeracji a ich kształt był zróżnicowany

(rysunek 5). Obserwacje te potwierdzono po analizie z użyciem mikroskopu sił atomowych (rysunek 6)

Rysunek 7. Obraz mikroskopowy uzyskany z użyciem mikroskopu sił atomowych (AFM) nanocząstek miedzi otrzymanych w mieszaninie reakcyjnej chlorku miedzi z ekstraktem z kory wierzby i tawuły



Źródło: opracowanie własne

Dyskusja

W ostatnich latach, coraz częściej wykorzystuje się naturalne ekstrakty roślinne jako alternatywę dla syntetycznych stabilizatorów i reduktorów, również do wytwarzania nanocząstek metali. Pierwszym ekstraktem roślinnym, stosowanym do bioredukcji, był ekstrakt z liści pelargonii pachnącej, który został zastosowany przez Shankara i wsp. (2003). Analizy spektrofotometryczna (UV-Vis) i TEM wykazały, że wielkość nanocząstek, otrzymanych tą metodą, wynosiła 20–40 nm. Do pomiaru rozkładu wielkości cząstek w prezentowanej pracy wykorzystano metody dynamicznego rozpraszania światła. Analiza rozmiaru nanocząstek otrzymanych z użyciem wybranych ekstraktów wskazuje na ich zróżnicowaną wielkość w zakresie 260,3–895,2 nm.

Wyniki Ahmed i wsp. (2015) potwierdzają, że biotechnologiczna synteza nanocząstek jest prosta, szybka, jednoetapowa, przyjazna dla środowiska i nietoksyczna. Po 15 min reakcji, uzyskano nanocząsteczki srebra w temperaturze pokojowej, bez udziału jakichkolwiek niebezpiecznych substancji chemicznych. W otrzymanych wynikach, synteza nanocząsteczek miała miejsce również po pierwszych 15 min reakcji.

Podsumowanie

Nanocząstki otrzymano z wykorzystaniem roztworów: octanu miedzi (II), siarczanu miedzi (II), dichlorku cynku, siarczanu cynku, chlorku miedzi oraz seleninu sodu w reakcji

katalizowanej przez wszystkie analizowane ekstrakty wodne z głogu, karczocha, kory wierzby i tawuły, melisy, lukrecji, nawłoci, oregano, mniszka, dziurawca oraz ze skórki z banana. Zaproponowana biotechnologia jest prosta, niekosztowna, przyjazna środowisku. Przebieg biosyntezy łatwo można monitorować metodą spektrofotometryczną. Shankar i wsp. (2003) otrzymali nanocząstki srebra poprzez dodanie do wodnego roztworu azotanu srebra ekstraktu z liści miodły indyjskiej. Stwierdzono 90% redukcję jonów srebra już po upływie 4h. Cząsteczki kwasów karboksylowych oraz liczne aldehydy i terpenoidy, zawarte w ekstrakcie z liści miodły indyjskiej, katalizowały redukcję jonów srebra. Doświadczenie wykazało, że tak otrzymane nanocząstki srebra były polidispersyjne, kuliste, o rozmiarach 5–35 nm.

Uzyskane wyniki wskazują, że związki zawarte w analizowanych ekstraktach, działają jednocześnie jako reduktory i stabilizatory powstałych nanocząstek. Na podstawie analizy obrazów mikroskopowych można stwierdzić, że wielkość otrzymanych cząstek, jest znacznie większa od 100 nm a ich kształt zróżnicowany. Konieczne jest także określenie możliwości skrócenia czasu reakcji ze względu na możliwość rozwoju drobnoustrojów w mieszaninie reakcyjnej.

Literatura

- Ahmed S., Ikram S. 2015. *Chitosan & its derivatives: a review in recent innovations. Plants extract mediated synthesis of silver nanoparticles for antimicrobial applications: a green expertise J. Adv. Res.*, 6 (1): 14-30.
- Chandran S., Chaudhary M., Pasricha R., Ahmad A. 2006. *Synthesis of gold nanotriangles and silver nanoparticles using Aloe vera plant extract. Biotechnol. Prog.* 22: 577.
- Chaudhry N, Dwivedi S, Chaudhry V, Singh A, Saquib Q, Azam A. 2018. *Bio-inspired nanomaterials in agriculture and food: Current status, foreseen applications and challenges. Microb. Pathog.*;123: 196-200
- Demain A. L., Solomon N. A. 1985. *Biology of industrial microorganisms*, The Benjamin/Cummings Publ. Comp., Inc.: 407-431.
- King T, Osmond-McLeod MJ, Duffy LL. 2015. *Nanotechnology in the food sector and potential applications for the poultry industry. Trends Food Sci. Technol* 72: 62-73
- Jeevanandam J, Barhoum A, Chan YS, Dufresne A, Danquah MK. 2018. *Review on nanoparticles and nanostructured materials: history, sources, toxicity and regulations. Beilstein J. Nanotechnol.*;9: 1050-1074.
- Kharissova O.V., Dias H.V.R., Kharisov B.I., Pérez B.O., Pérez V.M.J. 2013. *The greener synthesis of nanoparticles. Trends Biotechnol.*, 31: 240-248.
- Ghosh P.R., Fawcett D., Sharma S.B., 2017. Poinern GEJ. *Production of high-value nanoparticles viabiogenic processes using aqua cultural and horticultural food waste. Materials (Basel)*: 10.

- Sengani M., Grumezescu A.M., Rajeswari V.D. *Recent trends and methodologies in gold nanoparticle synthesis – A prospective review on drug delivery aspect*. *OpenNano*;2: 37-46.
- Maliszewska I. 2011. *Microbial synthesis of metal nanoparticles. 7, Metal Nanoparticles in Microbiology*, Springer-Verlag Berlin Heidelberg.
- Maliszewska I., Szewczyk K., Waszak K.: 2009. *Wykorzystanie metod biotechnologicznych do otrzymania nanocząstek metali* *J. Phys.: Conf. Ser.*, 146: 1.
- Mittal A.K., Bhaumik J., Kumar S., Banerjee U.C. 2014. *Biosynthesis of silver nanoparticles: Elucidation of prospective mechanism and therapeutic potential*. *J. Coll. Interf. Sci.*; 415: 39-47.
- Pathakoti K., Manubolu M., Hwang H.-M. 2017. *Nanostructures: Current uses and future applications in food science*. *J. Food Drug Anal.*;25: 245-253.
- Saratale R.G., Karuppusamy I., Saratale G.D., Pugazhendhi A., Kumar G., Park Y., 2018 *A comprehensive review on green nanomaterials using biological systems: Recent perception and their future applications*. *Coll. Surf B Biointerfaces*;170: 20-35.
- Saratale R.G., Saratale G.D., Shin H.S., Jacob J.M., Pugazhendhi A., Bhaisare M. 2018 *New insights on the green synthesis of metallic nanoparticles using plant and waste biomaterials: current knowledge, their agricultural and environmental applications*. *Environ. Sci. Pollut. Res. Int.*;25: 10164-10183.
- Shankar S.S., Ahmad A., Pasricha R. , Sastry M., Mater J. 2003. *Bioreduction of chloroaurate ions by geranium leaves and its endophytic fungus yields gold nanoparticles of different shapes*. *Chem.*, 13: 1822.
- Shoeibi S., Mozdziak P., Golkar-Narenji A. 2017. *Biogenesis of selenium nanoparticles using green chemistry*. *Top. Current Chem.* 375: 88.
- Thuesombat P., Hannongbua S., Akasit S., Chadchawan S. 2014. *Ecotoxicology and environmental safety effect of silver nanoparticles on rice (Oryza sativa L. cv. KDML 105) seed germination and seedling growth*. *Ecotox. Environ. Safe*, 104: 302-309.
- Wagner V., Dullaart A., Bock A. K., Zweck A. 2006. *The emerging nanomedicine landscape*. *Nature Biotech.*, 24: 1211.

Podziękowania

Projekt realizowany w ramach Grantu Rektora UWM w Olsztynie (Umowa: UWM-PKsz.s.440.10.2018.4). Serdeczne podziękowania za wsparcie merytoryczne oraz pomoc w realizacji niektórych doświadczeń składamy następującym osobom: dr. hab. inż. Markowi Adamczakowi prof. UWM; dr Katarzynie Głowackiej; dr. hab. Sławomirowi Kuleszy, prof. UWM.

Ocena możliwości otrzymywania wegańskich lodów na bazie napojów orzechowych

Assessment of the possibility of obtaining vegan ice cream based on nut drinks

Piotr Jakuć

Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie
Wydział Nauki o Żywności
Studenckie Koło Naukowe Technologów Przetwórstwa Surowców Roślinnych
Opiekun: dr hab. inż. Małgorzata Tańska, prof. UWM

Abstract

In recent years, plant drinks have become a very popular ingredient in the vegan diet. There are many such products available on the Polish market, e.g. hazelnut, coconut, sesame, rice, almond, oat and soy drinks. The purpose of the work was to evaluate the possibility of the ice cream with nut plant drinks production. The products were characterized on the base of organoleptic properties.

The ingredients in the vegan ice cream were: plant drinks from nuts (almond, tiger nut, hazelnut and cashew nut), aquafaba, coconut "cream" and sugar. The ice cream was made by mixing all ingredients, whipping using a blender and then freezing in the freezer. The ice cream obtained was evaluated in terms of: color, taste, smell, texture and consistency. The 5-point scale was used for the assessment (1 point - the least desirable feature, 5 points - the most desirable feature).

An analysis of the organoleptic characteristics of the tested ice cream showed that nut drinks could be a good substitute for cow's milk. The most preferred were ice cream prepared from drinks from almonds and tiger nuts. Ice cream from hazelnut and cashew nut drinks were characterized by too delicate taste and smell, which resulted in a lower overall rating of these products.

Keywords: ice cream, nut drink, organoleptic feature, vegan diet, lactose intolerance

Wstęp

Wegetarianizm w Polsce i na świecie staje się coraz bardziej popularnym sposobem odżywiania. W zależności od formy, ogranicza spożycie produktów pochodzenia zwierzęcego, takich jak mięso, mleko, jaja, itp. (Goluch i Zielińska 2013). Wegetarianizm, ze względu na rodzaj spożywanych produktów, możemy podzielić na kilka typów, są to: laktoowegetarianizm, w którym dozwolone jest jedzenie nabiału oraz jaj; laktowegetarianizm, w którym dozwolone jest spożycie produktów nabiałowych; owowegetarianizm, w którym dozwolone jest spożycie jaj oraz weganizm, w diecie której nie spożywa się mięsa, jaj ani nabiału. Alternatywą dla produktów zwierzęcych stają się produkty pochodzenia roślinnego, takie jak orzechy, rośliny zbożowe, rośliny strączkowe, warzywa,

owoce, grzyby (Reguła 2013). Według wyników badań Instytutu Badania Opinii Homo Homini dla Lightbox z września 2013 roku, około pół miliona Polaków jest weganami co stanowi 1,6% mieszkańców Polski (www.lightbox.pl/poradnik-lightbox/zdrowe-odzywianie/wyniki-badania-instytutu-badania-opinii-homo-homini-dla-lightbox-wrzesien-2013).

Powodów przejścia na dietę wegańską jest wiele, jednym z nich są względy etyczne. Wielu ludzi sprzeciwia się okrucieństwu wobec zwierząt podczas ich hodowania i uboju. Zagadnienie uboju zwierząt stwarza wiele kontrowersji, przez co staje się jednym z głównych powodów przejścia na weganizm (www.empatia.pl/magazyn/Dlaczego_Weganizm_Katarzyna.pdf; www.abolitionistapproach.com/veganism-just-another-way-of-reducing-suffering-or-a-fundamental-principle-of-justice-nonviolence).

Innym aspektem, który przemawia za przejściem na dietę wegańską, są względy ekologiczne. Dieta tradycyjna niszczy środowisko i wyczerpuje zasoby naturalne znacznie bardziej niż dieta roślinna. Według organizacji takich jak PETA (People for the Ethical Treatment of Animals), produkcja mięsa oraz nabiału przyczynia się do globalnego ocieplenia, degradacji gleb, zanieczyszczania wód oraz wymaga ona większych areałów ziemi oraz większych ilości wody i energii (www.peta.org/issues/animals-used-for-food/factory-farming). Hodowla zwierząt wykorzystuje około 8% światowego zużycia wody na potrzeby produkcji pasz, pojenia zwierząt oraz przetwórstwa. Woda, która wraca do obiegu jest zanieczyszczona odchodami, pestycydami, antybiotykami i metalami ciężkimi, przez co jest niebezpieczna dla środowiska. Ponadto, aby założyć pastwiska oraz pola uprawne pasz, są karczowane lasy. Skutkiem degradacji ekosystemów jest zanik różnorodności biologicznej, co prowadzi do skażenia powietrza i wody oraz zmian klimatycznych. Podsumowując aspekty ekologiczne, weganizm jest jedną z kilku odpowiedzi na kryzys ekologiczny. Ograniczając lub całkowicie odsuwając produkty pochodzenia zwierzęcego, ograniczamy jeden z główniejszych źródeł problemów ekologicznych (Wiewiór 2015).

Kolejnym powodem weganizmu są względy zdrowotne. Potwierdza się, że u wegan rzadziej występują przypadki nowotworów, otyłości oraz nadciśnienia tętniczego. Według specjalistów dieta ta charakteryzuje się mniejszym spożyciem tłuszczów nasyconych, cholesterolu, ponadto bogata jest w prozdrowotny błonnik pokarmowy i inne potrzebne składniki (Kowalski i Kowalska 2018).

Oprócz weganizmu z wyboru, możemy również wyróżnić przejście na weganizm ze względu na problemy zdrowotne np. nietolerancja laktozy. Nietolerancje pokarmowe powodują dolegliwości jelitowe oraz objawiają się zaburzeniami systemowymi. Laktoza jest

cukrem złożonym, który występuje w mleku ssaków, np. w mleku krowim. Odpowiedzialny za jego rozkład na cukry proste w jelicie cienkim, jest enzym trawienny laktaza, którego aktywność obniża się z biegiem lat. Enzym ten najbardziej aktywny jest u niemowląt i noworodków. W ciągu pierwszych lat życia produkcja laktazy obniża się do około 75%, a u dorosłych zatrzymuje się na 10% początkowej aktywności. Szacuje się, że około 70% dorosłych ludzi, wykazuje w jakimś stopniu nietolerancję laktozy. Jest ona zaburzeniem procesu trawiennego, będącym wynikiem niedoboru laktazy. Możemy wyróżnić trzy postaci kliniczne tego niedoboru, z których dwa mogą dotyczyć większości ludzi. Pierwszym typem niedoboru laktazy jest wrodzony niedobór laktazy, czyli alaktazja. Jest to choroba uwarunkowana genetycznie i bardzo niebezpieczna w swoim przebiegu, lecz jest ona bardzo rzadka. Objawami u noworodków są wodniste biegunki i kwaśne stolce po pierwszym podaniu pokarmu matki lub modyfikowanego mleka zawierającego laktozę. W przypadku alaktazji, konieczne jest całkowite wyeliminowanie laktozy z diety. Kolejnym typem niedoboru laktazy jest pierwotny niedobór laktazy, czyli hipolaktazja typu dorosłych. Jest to najczęściej występujący rodzaj niedoboru laktazy, uwarunkowany genetycznie oraz zależny od pochodzenia etnicznego. Charakterystyczną cechą jest postępujące z wiekiem zmniejszanie aktywności laktazy. Prawdopodobieństwo zachorowania można sprawdzić poprzez badanie genetyczne, ponieważ pierwotny niedobór laktazy, jest związany z polimorfizmem, czyli różnicami w DNA populacji. Przy takim typie nietolerancji laktozy, zaleca się ograniczenie lub wykluczenie laktozy z diety. U niektórych nietolerujących laktozę, możliwe jest wprowadzenie do diety produktów mlecznych, pod warunkiem suplementacji laktazy, jak również produkty, które zawierają żywe kultury bakterii obniżające poziom laktozy, jak np. jogurty, maślanka czy sery pleśniowe. Trzecim rodzajem nietolerancji laktozy jest wtórny niedobór laktazy. Jest przejściowym stanem towarzyszącym chorobom, w wyniku których, uszkodzeniu ulegają szczytowe części kosmków jelitowych, takich jak: organiczne uszkodzenia błony śluzowej jelit, ostre zakażenia żołądkowo-jelitowe oraz skutki uboczne leczenia, m.in. antybiotykami, promieniem jonizującym, chemioterapeutykami czy niesteroidowymi lekami przeciwzapalnymi. Ten typ nietolerancji może wystąpić również przy niedożywieniu, mukowiscydozie, chorobie Leśniowskiego-Crohna czy enteropatii cukrzycowej (Markłowska-Dzierżak 2017).

Objawy nietolerancji laktozy są różne w zależności od wieku chorego, ale wspólne od rodzaju tego schorzenia. U niemowląt i noworodków objawami jest wodnista biegunka z tendencją do odparzania pośladków. U dzieci, młodzieży oraz dorosłych najczęściej są to

problemy żołądkowo-jelitowe, takie jak nudności i wymioty, biegunka, bóle brzucha, wzdęcia, kolki, burczenie w brzuchu, uczucie pełności oraz nadmierne ilości gazów. Powyższe objawy mogą występować pojedynczo oraz w kombinacjach. Objawy występują od pół godziny do 12 godzin po spożyciu posiłków zawierających laktozę (Zatwarnicki, 2014).

Jak każda dieta, dieta wegańska posiada pozytywne i negatywne aspekty. Do korzyści zdrowotnych wynikających ze stosowania tej diety należy: niska gęstość energetyczna, wysoka wartość odżywcza, ograniczona zawartość tłuszczu i nasyconych kwasów tłuszczowych, cholesterolu, soli, zwiększony udział NNKT, wyższa zawartość węglowodanów złożonych, błonnika pokarmowego, witaminy C i innych witamin rozpuszczalnych w wodzie oraz substancji bioaktywnych, korzystny stosunek sodu do potasu, zmniejszenie zagrożenia ze strony węglowodorów aromatycznych, nitrozoamin, antybiotyków i leków weterynaryjnych, *Salmonelli*, włóśni, itp. Ryzyko stosowania diety wegetariańskiej jest związane z możliwością niespełnienia zaleceń żywieniowych. Osoby stosujące bardzo rygorystyczne formy żywienia wegetariańskiego, mogą problemy z pokryciem zapotrzebowania na energię, niedostateczną podażą białka, niską wartość biologiczną białka, niedoborem aminokwasów egzogennych, deficytem kobalaminy oraz witaminy D, niedostateczną podażą Ca, Fe, Zn, jodu i ich niską biodostępność oraz zwiększone zagrożenie ze strony substancji antyodżywczych (np. glukozynolanów, saponiny), pozostałości środków ochrony roślin i nawozów (Parzyńska 2013). W celu zminimalizowania niedoborów pokarmowych w diecie wegańskiej, należy zwracać szczególną uwagę na jadłospis i wprowadzać odpowiednie składniki, np. stosować zamienniki mięsa, aby dostarczyć odpowiednią ilość białka. Wegetariańskie posiłki powinny być zbilansowane i urozmaicone na tyle, aby dostarczały odpowiednią ilość składników pokarmowych. Doskonałym zamiennikiem białka zwierzęcego, jest białko zawarte m.in. w nasionach łubinu jadalnego (Kowalski i Kowalska 2018). Oprócz łubinu, głównymi źródłami białka są soja, soczewica, bób, groch, fasola, orzechy, produkty zbożowe oraz nasiona. Natomiast źródłami tłuszczów w tej diecie są oleje roślinne oraz orzechy. Węglowodany możemy dostarczyć poprzez spożywanie pieczywa, kasz, makaronów, ryżu, ziemniaków oraz suchych roślin strączkowych. Głównym źródłem błonnika są owoce i warzywa oraz pieczywo z pełnego przemiału, orzechy i rośliny strączkowe suche. W produktach takich jak: papryka, pietruszka, pomidory, brukselka, truskawki, czarna porzeczka oraz w owocach cytrusowych możemy znaleźć witaminę C. Witaminy z grupy B znajdują się w produktach zbożowych z pełnego przemiału, roślinach strączkowych oraz w warzywach. Rośliny, takie jak dynia, brokuły czy jarmuż oraz glony morskie, są bogate

w witaminę A a witaminę E możemy dostarczyć, wprowadzając także oleje roślinne, orzechy, zielone warzywa liściaste i suche rośliny strączkowe. Aby dostarczyć wapń oraz żelazo powinniśmy spożywać nasiona strączkowe, nasiona, warzywa liściaste, glony oraz orzechy (Parzyńska 2013).

Znalezienie alternatyw dla produktów pochodzenia zwierzęcego, na początku może sprawiać trudności. Jednak na półkach sklepowych możemy znaleźć wiele zamienników. Mleko krowie można zastąpić napojami roślinnymi, takimi jak: napój sojowy, ryżowy, orzechowy, owsiany czy konopny. Ceny tych napojów nadal są dosyć wysokie, lecz można je wykonać samodzielnie namaczając soję, orzechy, migdały lub inne w wodzie, a następnie je miksując. Napoje dostępne w sklepie, są dodatkowo fortyfikowane m.in. wapniem, lecz można taki zabieg również wykonać w domu kupując, np. węglan wapnia i dodać do napojów wykonanych samodzielnie. Aby uzyskać jogurt domowym sposobem, można zainwestować w jogurt sojowy. Kilka łyżek takiego jogurtu miesza się z napojem roślinnym, odstawia się w ciepłe miejsce na kilkanaście godzin. Tak uzyskany jogurt stanowi bazę do kolejnych porcji jogurtu, a fermentacja zachodzi o wiele szybciej. Zastąpienie jaj kurzych zależy od funkcji, jaką mają pełnić zamienniki. Do uzyskania odpowiedniej struktury, np. kotletów ze strączków, można użyć zmielonego siemienia lnianego zalanego wrzątkiem lub mąki ziemniaczanej czy kukurydzianej. W naleśnikach doskonale sprawdzą się zmielone płatki owsiane, zaś w ciastach zmiksowane tofu, banan, dynia czy woda po gotowaniu ciecierzycy. Biały ser można zastąpić tofu, dodając go jako farsz do pierogów. Tofu może również stanowić alternatywę białego sera w serniku (w wegańskiej wersji tofurnik). Na rynku są dostępne wegańskie sery żółte, które są zbliżone smakiem, zapachem oraz strukturą do oryginalnych. Gdy osobom na diecie zabraknie smaku ryby, warto wtedy zaopatrzyć się w glony morskie, takie jak nori czy wakame. W takie płaty można zawijać kotlety sojowe, plastry selera czy tofu. Po panierowaniu i usmażeniu smakują podobnie do ryby. Smak przybliżony do mięsa uzyskamy odpowiednio przyprawiając danie. Taką wskazówkę można zastosować, np. do kotletów sojowych. Powyższe alternatywy smaków produktów pochodzenia zwierzęcego, nie będą w stu procentach odwzorowywały produktów odzwierzęcych, ale kuchnia wegańska nawet bez nich jest niezwykle urozmaicona i bogata (Załużka 2015).

Ważny element diety wegańskiej stanowią orzechy, które dostarczają wiele składników mineralnych. W orzechach można wyróżnić takie makroelementy, jak: wapń, fosfor, sód i potas oraz mikroelementy: cynk miedź, żelazo oraz mangan. Na przykład orzechy laskowe są cennym źródłem potasu, fosforu, wapnia oraz magnezu. Dostarczają one znaczną ilość żelaza

i manganu. Orzechy nerkowca mają wysoką zawartość potasu, fosforu oraz magnezu, a ponadto dostarczają sód, wapń, żelazo oraz cynk. Migdały zaś są dobrym źródłem potasu, fosforu oraz również magnezu. Oprócz powyższych składników w migdałach możemy również wyróżnić obecność, takich składników jak wapń czy żelazo. Mogą one stanowić tylko dodatek lub też być głównym ich składnikiem potraw. Mnogość orzechów na rynku, ich zróżnicowanie w składzie i smaku pozwala na otrzymywanie z nich produktów o różnych walorach (Mikołajczak 2016).

Cel i metodyka badań

Celem badań była próba wyprodukowania lodów wegańskich na bazie roślinnych napojów orzechowych oraz ocena ich cech organoleptycznych.

Materiał do badań stanowiły orzechowe napoje roślinne, zakupione w jednym ze sklepów internetowych ze zdrową żywnością. Do badań wykorzystano napój z orzechów tygrysi, napój z orzechów laskowych, napój z orzechów nerkowca oraz napój migdałowy. Powyższe napoje roślinne stanowiły podstawowy składnik do stworzenia lodów wegańskich. Do przygotowania lodów wykorzystano również aquafabę, czyli wodę po gotowaniu ciecierzycy, jako zamiennik jaja kurzego, a także śmietankę kokosową jako zamiennik śmietany. Ciecierzycę zakupiono w lokalnym markecie, natomiast śmietankę kokosową w jednym ze sklepów internetowych ze zdrową żywnością. Sposób postępowania przy sporządzeniu lodów był następujący: aquafaba została ubita na pianę z dodatkiem cukru białego, następnie ubito śmietankę kokosową i połączono z aquafabą z cukrem oraz zagotowanym wcześniej i ostudzonym do temperatury pokojowej napojem roślinnym. Uzyskana masa była mrożona i mieszana co godzinę przez 6 godzin w celu uzyskania lekkiej i aksamitnej konsystencji lodów.

Ocenę organoleptyczną badanych lodów wykonano na podstawie ankiet. Ocenę przeprowadził 11 osobowy zespół w wieku 22-24 lat, w którym każdy przyznawał ocenę w skali 5-punktowej, gdzie 1 punkt oznaczał ocenę najgorszą, zaś 5 punktów ocenę najlepszą. Podczas analizy oceniano, takie cechy jak: barwa, smak, zapach, struktura i konsystencja. Wyniki ankiet uśredniono.

Wyniki badań i dyskusja

Wyniki oceny organoleptycznej lodów z wybranymi napojami roślinnymi przedstawiono w tabeli 1. Opinie ankietowanych były pozytywne, co wskazuje, że lody wegańskie mogą być dobrą alternatywą dla lodów tradycyjnych.

Pod względem barwy najlepiej zostały ocenione lody otrzymane z napoju migdałowego, uzyskując średnią ocenę 4,36 pkt. Nieznacznie niższe oceny za tę cechę przyznano lodom, do przygotowania których użyto napojów z orzechów laskowych (4,09 pkt) i orzechów nerkowca (4,00 pkt). Najniższe oceny za barwę przyznano lodom na bazie napoju z orzechów tygrysich (3,18 pkt). Niższe oceny przyznawane za barwę tych lodów, mogły wynikać z szarego odcienia, typowego dla napoju z orzechów tygrysich. Jednak pod względem smaku, lody przygotowane z tego napoju zostały najlepiej ocenione (4,27 pkt), na co niewątpliwie wpłynął orzechowo-migdałowy posmak napoju. Równie wysoko oceniono smak lodów na bazie napoju migdałowego (4,18 pkt). Z kolei smak lodów na bazie napoju z orzechów laskowych oraz orzechów nerkowca, został nisko oceniony (oceny poniżej 3,5 pkt). Wskazuje to na fakt, że bardziej preferowany w produktach o niskiej temperaturze, jest wyraźny smak migdałowy niż delikatny orzechowy.

Trzecią badaną cechą lodów był zapach. W tej kategorii, najwyższą średnią ocenę (3,91 pkt) uzyskały lody z napoju migdałowego, najniższą zaś (3,36 pkt) lody z napoju z orzechów laskowych. W tym przypadku zaobserwowano pewne podobieństwo do ocen smaku. Wyjątek stanowiły tylko lody z napoju z orzechów nerkowca, które otrzymały ocenę porównywalną do lodów z napoju migdałowego. Jednakże wysokie wartości odchylenia standardowego wskazują na duże zróżnicowanie w preferencjach zapachowych konsumentów.

Kolejną badaną cechą, którą oceniali konsumenci, była struktura. Pod względem tej cechy, najwyżej zostały ocenione lody z napoju migdałowego (3,82 pkt), najgorzej zaś lody z napoju z orzechów laskowych (3,18 pkt). Ankietowani wskazywali cechy, które negatywnie wpływały na ocenę organoleptyczną, np. wyczuwalne kryształki lodów. Mogło to być spowodowane nierównomiernym mrożeniem lodów.

Ostatnią badaną cechą była konsystencja. Spośród wszystkich lodów, najlepiej ocenione zostały lody z napojem z orzechów tygrysich (3,91 pkt), zaś najgorzej lody z napojem migdałowym (3,73 pkt) oraz lody z napojem z orzechów laskowych (3,73 pkt). Na takie oceny mogła mieć wpływ niejednolita konsystencja lodów spowodowana nieodpowiednimi warunkami panującymi w laboratorium podczas badań tzn. lody zbyt szybko się rozpuszczały.

Wyższe oceny przyznawane były zazwyczaj dla lodów na bazie napoju migdałowego zdecydowały o najwyższej ocenie ogólnej tego produktu (4,00 pkt). Niższe oceny ogólne, wynoszące 3,75 pkt, uzyskały lody przygotowane z napojów z orzechów tygrysich i orzechów nerkowca. Najmniej preferowane przez ankietowanych były lody z napoju z orzechów laskowych, które zostały ocenione na 3,34 pkt.

Tabela 1. Ocena organoleptyczna badanych lodów z wybranymi napojami roślinnymi wyrażona w punktach

Cecha		Lody z napojem migdałowym	Lody z napojem z orzechów tygrysiach	Lody z napojem z orzechów laskowych	Lody z napojem z orzechów nerkowca
Barwa	\bar{x}	4,36	3,18	4,09	4,00
	\hat{S}	0,81	0,75	0,83	0,63
Smak	\bar{x}	4,18	4,27	2,36	3,36
	\hat{S}	0,75	0,65	1,21	0,81
Zapach	\bar{x}	3,91	3,73	3,36	3,82
	\hat{S}	0,83	0,65	0,50	1,08
Struktura	\bar{x}	3,82	3,64	3,18	3,73
	\hat{S}	0,75	0,81	0,87	0,65
Konsystencja	\bar{x}	3,73	3,91	3,73	3,82
	\hat{s}	0,65	0,83	0,90	0,87
Ogółem	\bar{x}	4,00	3,75	3,34	3,75
	\hat{s}	0,65	0,40	0,65	0,24

\bar{x} - wartość średnia, \hat{s} – odchylenie standardowe, czcionką pogrubioną zaznaczono wyniki najwyższe i najniższe badanej cechy

Źródło: Opracowanie własne.

Podsumowanie

Przeprowadzona ocena organoleptyczna wykazała, że napoje roślinne mogą być bardzo dobrym zamiennikiem mleka krowiego w produktach takich jak lody. Stwierdzono, że zastosowanie w lodach napojów roślinnych, wpływało szczególnie na smak badanych lodów. Wyniki oceny struktury i konsystencji również wskazały na podobieństwo lodów na bazie napojów roślinnych do lodów tradycyjnych. Oceny za te cechy lodów, wahały się między 3,18 a 3,91 pkt, lecz było to prawdopodobnie spowodowane wytwarzaniem lodów w warunkach laboratoryjnych, bez zastosowania odpowiedniego urządzenia do typu produktów. Warto zauważyć, że napoje z orzechów, cechują się delikatnym smakiem i aromatem, który dodatkowo jest słabo wyczuwalny przy obniżeniu temperatury produktu. A zatem, aby poprawić walory smakowo-zapachowe lodów na bazie takich napojów, należałoby wprowadzić dodatki o wyraźnym aromacie, m.in. kakao, wanilię lub ekstrakty, np. waniliowy czy migdałowy. Opisane powyżej cechy napojów orzechowych wpłynęły prawdopodobnie na ich zastosowanie w produkcji lodów jedynie jako dodatku a nie głównego składnika. Dlatego też, porównanie uzyskanych w niniejszej pracy wyników z danymi literaturowymi, jest utrudnione.

Wnioski

Lody wegańskie na bazie napojów orzechowych zostały generalnie pozytywnie ocenione pod względem cech organoleptycznych. Najbardziej preferowanymi cechami,

zdaniem oceniających, wyróżniały się lody przygotowane z napojów z migdałów oraz orzechów tygrysiach.

Lody przygotowane z napojów z orzechów laskowych i orzechów nerkowca cechowały się zbyt delikatnym smakiem i zapachem, co wpłynęło na niższą ocenę ogólną tych produktów.

Walory smakowo-zapachowe lodów na bazie napojów orzechowych można poprawić poprzez dodatek składników o wyraźnym aromacie, np. kakao, ekstrakt waniliowy lub migdałowy. Poprawę struktury i konsystencji lodów z napojów orzechowych można uzyskać poprzez użycie do ich sporządzenia maszyny do lodów.

Literatura

- Goluch Z., Zielińska B. 2013. *Ocena zachowań żywieniowych wegan będących w okresie prokreacji. Nowoczesne trendy w żywieniu i produkcji żywności*, WSHIT CZĘSTOCHOWA: 68-83.
- Kowalski R., Kowalska G. 2018. *Wegetarianizm, co o nim wiesz*. *Zdrowie i Uroda*, 54-55. (https://www.researchgate.net/publication/327776148_Wegetarianizm_co_o_nim_wiesz).
- Markłowska-Dzierżak M. 2017. *Nietolerancja laktozy – problem nie tylko gastryczny*. *Biotechnologia.pl*.
- Mikołajczak N. 2016. *Składniki mineralne w orzechach występujących w składzie „Mieszanek Studenckich”*, *Journal of Education, Health and Sport* 6(9): 832-840.
- Parzyńska E. 2013. *Dieta wegetariańska w świetle zasad prawidłowego odżywiania-postawy i zachowania wegetarian w Polsce*. *Zesz. Nauk. UEK*, 906: 27-36.
- Reguła J. 2013. *Charakterystyka i ocena wybranych diet alternatywnych*. *Forum Zaburzeń Metabolicznych*, 4(3): 115-121.
- Wiewiór Ł. 2015. *Weganizm jest dla ludzi, Weganizm, a ekologia*. *Polskie Stowarzyszenie Wegańskie*, Kraków: 38-41.
- www.abolitionistapproach.com/veganism-just-another-way-of-reducing-suffering-or-a-fundamental-principle-of-justice-nonviolence/ (dostęp 05.03.2019).
- www.empatia.pl/magazyn/Dlaczego_Weganizm_Katarzyna.pdf (dostęp 05.03.2019).
- www.lightbox.pl/poradnik-lightbox/zdrowe-odzywianie/wyniki-badania-instytutu-badania-opinii-homo-homini-dla-lightbox-wrzesien-2013 (dostęp 05.03.2019).
- www.peta.org/issues/animals-used-for-food/factory-farming (dostęp 05.03.2019).
- Załucka J. 2015. *Weganizm jest dla ludzi. Jak zastąpić produkty zwierzęce?* *Polskie Stowarzyszenie Wegańskie*, Kraków: 10-15.
- Zatwarnicki P. 2014. *Nietolerancja laktozy-przyczyny, objawy, diagnostyka*. *Piel.Zdr.Publ.* 4(3): 274-276

Rozdział IV

Żywność funkcjonalna jako element bezpieczeństwa żywności

Zawartość związków fenolowych i aktywność przeciwutleniająca kaw zbożowych

Phenolic compounds and antioxidant properties of chicory coffee

Karol Czyszpak

Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie
Wydział Nauki o Żywności
Studenckie Koło Naukowe Technologów Przetwórstwa Surowców Roślinnych
Opiekun: dr hab. inż. Małgorzata Tańska, prof. UWM

Abstract

The aim of the present study was to compare of the phenolic compounds content and antioxidant activity of different commercial chicory coffees. In the study “Kawa zbożowa z cykorią” (chicory 50%, rye 48%, white beet), “Anatol” (chicory, rye 50% - roasted), “Kujawianka” (rye 60%, barley 20%, chicory, white beet - roasted), „Inka” (78% barley and rye, chicory) and “Żołędziówka” (roasted acorns 98,5%, cardamom, ginger, cinnamon, cloves) were tested. To the study 80% methanolic and water extracts were prepared. Then the content of phenolic compounds using Folin-Ciocalteu reagent and antioxidant activity using DPPH radical were determined. It was shown that the chicory coffees contained more water-soluble phenolic compounds than soluble in 80% methanol. Regardless of the solvent used for the extraction, the most phenolic compounds contained "Żołędziówka" coffee. The phenolic compounds in the coffee were also characterized by greater antioxidant activity. "Kujawianka" coffee contained the least phenolic compounds soluble in water and had the least antioxidant activity.

Keywords: chicory coffee, phenolic compounds, antioxidant activity, methanolic extract, water extract

Wstęp

Kawa zbożowa to rodzaj napoju bezkofeinowego, w smaku zbliżonym do kawy naturalnej. Do Polski została przywieziona z Prus (pod koniec XVIII wieku), jednak od tego czasu w technologii produkcji tego napoju niewiele się zmieniło. Podobnie jak kiedyś, otrzymywana jest z palonych ziaren żyta, pszenicy (także pszenicy orkisz) lub jęczmienia, a niekiedy także z korzenia mniszka, buraka cukrowego lub cykorii z dodatkiem ewentualnych przypraw korzennych (Ball 2001). W niektórych regionach Polski kawę przygotowuje się z nasion kozieradki lub łubinu. Mniej popularnymi surowcami są figi i żołądzie. Początkowo kawa zbożowa była pita jedynie w Wielkopolsce i na Śląsku przez najuboższe warstwy społeczne. Z czasem, zwłaszcza od czasu wojen światowych, trafiła na wszystkie stoły (Tarasiewicz 2009).

Kawy zbożowe na rynku występują w formie kawy rozpuszczalnej, w torebkach do zaparzania (tzw. ekspresowa) lub bardziej tradycyjnej – do gotowania. Dostępne są również produkty na bazie kawy zbożowej z dodatkiem mleka, cukru i witamin (Gąsiorowski 2004). Na rynku Polskim dostępne są takie kawy, jak:

- zbożowe rozpuszczalne, np. Inka,
- zbożowe granulowane, np. Poranna,
- zbożowe ekspresowe (w torebkach), np. Anatol,
- zbożowe sypane, np. Kujawianka, Żołądziówka.

Proces technologiczny produkcji kawy zbożowej obejmuje następujące etapy (Jeleń 2004):

- prażenie komponentów mieszanki kawy,
- rozdrabnianie składników,
- mieszanie składników,
- pakowanie kawy.

W przypadku kawy zbożowej typu instant dodatkowymi etapami są:

- ekstrakcja mieszanki składników,
- suszenie ekstraktu.

Prażenie składników odbywa się w różny sposób i zależy od rodzaju zastosowanego do produkcji surowca. Cykorię i buraki cukrowe dokładnie myje się, kroi w płatki, suszy w suszarkach bębnowych do zawartości wody 8-10%, a następnie praży w piecach ogrzewanych za pomocą gorącego powietrza. Proces trwa około 70 minut. Początkowo przebiega w temperaturze 100-105°C przez 25 min (następuje odparowanie wody), a w kolejnym etapie następuje stopniowe podwyższenie temperatury do 160°C, a na kilka minut przed zakończeniem prażenia, dodaje się olej roślinny w ilości 1%. Po ukończonym procesie prażenia, materiał chłodzi się do temperatury około 20°C, a następnie po zmieleniu przesiewa przez sito (Ambroziak 1990).

Stosując do produkcji ziarna zbóż, moczy się je do zawartości wody około 45% w temperaturze 50-60°C a następnie praży. Proces trwa około 100 min i składa się z następujących etapów: 10-25 minut do otrzymania temperatury 100°C, kolejno 25 minut w temperaturze 100-110°C. Końcowym etapem jest prażenie właściwe wykonywane w temperaturze 110-200°C przez 50-60 minut. Po ukończonym procesie prażenia, ziarna poddaje się chłodzeniu oraz rozdrabnia i przesiewa w celu ujednoczenia produktu końcowego (Cämmerer 2006; Chrostowska-Siwek 2011; Flament 2002).

Chociaż asortyment kaw zbożowych na rynku polskim z roku na rok się zwiększa, to niestety nie jest ona tak popularna, jak kawa naturalna. Różni producenci stosują różne proporcje poszczególnych komponentów kawy, co może wskazywać na różne ich właściwości. Niekonwencjonalnym surowcem do produkcji kawy stały się w ostatnich latach prażone żołądziejce. Uzyskiwana z nich kawa, nie jest jeszcze popularna na rynku krajowym, jednak wyniki badań naukowych wskazują na jej potencjał biologiczny i korzyści z zastosowania w profilaktyce żywieniowej (Kobielska 2009)

Ze względu na zawartość kofeiny w kawie naturalnej, kawa zbożowa stała się jej substytutem. Kawa ta nie uzależnia oraz nie utrudnia wchłaniania składników mineralnych, dlatego mogą ją spożywać osoby, które ze względów zdrowotnych nie mogą spożywać kawy czarnej. Dodatkowo dzięki obecności węglowodanów ma właściwości pobudzające, wpływające pozytywnie na pracę mózgu. Badania wskazują, że kawa zbożowa nie posiada właściwości uzależniających i nie utrudnia wchłaniania składników mineralnych [Krełowska-Kułas 1993]. Składniki obecne w surowcach stosowanych do produkcji kawy zbożowej oraz substancje powstające w procesie prażenia, nadają jej charakterystyczne walory smakowe oraz prozdrowotne. Stosowane do produkcji kaw zbożowych ziarna zbóż są bogatym źródłem związków biologicznie aktywnych, w tym m.in. polifenoli. Związki te wykazują działanie antyoksydacyjne. Dodatkowo, kawy wzbogacane dodatkiem z cykorii, działają probiotycznie ze względu na występującą w niej inulinę (Gąsiorowski 1994; Gąsiorowski 1997).

Związki fenolowe stanowią liczną grupę związków o właściwościach przeciwutleniających, czyli silnej zdolności usuwania wolnych rodników. Występują głównie w organizmach roślinnych, ale gromadzone są w ich różnych częściach takich jak: owoce, kwiaty, liście i korzenie (Marciniak 2006). Naturalne antyoksydanty polifenolowe to związki o różnej strukturze i właściwościach. Produkowane są przez niektóre rośliny w odpowiedzi na stres, uszkodzenie, infekcję grzybową lub promieniowanie ultrafioletowe (UV). Na te związki w technologii żywności zwraca się szczególną uwagę. Dzieli się je ze względu na podstawowy szkielet węglowy na: kwasy fenolowe, flawonoidy, taniny, ligniny, stilbeny i lignany (Mitek 2006). Działanie przeciwutleniające fenoli polega na ich zdolności łączenia się z metalami, uniemożliwiając im udział w enzymatycznych procesach utleniania. Ponadto polifenole ograniczają utlenianie m.in. witaminy C, karotenoidów, nienasyconych kwasów tłuszczowych. Działają przez tzw. „wychwytywanie wolnych rodników”, oddając elektron tym wysoko aktywnym grupom (Kopcewicz 1998).

Ziarna zbóż i produkty ich przerobu zawierają wiele związków fenolowych (Kopcewicz 1998; Zieliński 2012). Szczególne znaczenie mają kwasy fenolowe, a wśród nich w większości zbóż, ilościowo dominuje kwas ferulowy. Ilość tego kwasu w ziarniakach jest zależna od cech odmianowych zboża oraz od wielkości ziarniaków. W połączeniu z innymi związkami, występuje go więcej niż w formie wolnej (Jankowski 1988, Klepacka 2008). Kawy zbożowe są dobrym źródłem katechin (flawan-3-oli) a zaletą tych związków jest brak charakterystycznego smaku i zapachu, co sprawia, że nie pogarszają one cech organoleptycznych produktu gotowego (Worobiej i Relidzińska 2011). Poza właściwościami przeciwutleniającymi, katechiny mogą wykazywać właściwości przeciwnowotworowe, przeciwmutagenne, przeciwbakteryjne i przeciwzapalne. Te właściwości katechin wykorzystuje się przy komponowaniu nowych produktów (np. ciastek, płatków śniadaniowych) (Singleton 1965; Hrankowski 1976). Wysoka aktywność katechin, jak i mechanizmów ich oddziaływania, zależy od liczby grup hydroksylowych. Należy jednak mieć na uwadze zagrożenie wynikające ze stosowania zbyt dużej ilości tych związków, ponieważ w wyniku ich utleniania, mogą powstawać reaktywne metabolity o strukturze chinonów. Związki te, w reakcjach z udziałem tlenu cząsteczkowego, generują duże ilości reaktywnych form tlenu, uszkadzając DNA, RNA czy białka, prowadząc tym samym do powstawania wielu chorób (Świetlikowska 2006).

Celem pracy było porównanie dostępnych na rynku detalicznym kaw zbożowych pod względem zawartości związków fenolowych oraz aktywności przeciwutleniającej. W pracy zbadano zawartość i aktywność przeciwutleniającą związków fenolowych rozpuszczalnych w wodzie oraz 80% metanolu.

Material i metody badań

W badaniach przebadano pięć rodzajów kaw zbożowych, zakupionych w lokalnych sklepach, na terenie miasta Olsztyn, różniących się składem surowcowym, w tym: „Kawa zbożowa z cykorią” (cykoria 50%, żyto 48%, burak cukrowy), „Anatol” (cykoria, żyto 50% - prażone), „Kujawianka” (żyto 60%, jęczmień 20%, cykoria, burak cukrowy - prażone), „Inka” (78% jęczmień i żyto, cykoria). „Żołędziówka” (prażone żołędzie 98,5%, kardamon, imbir, cynamon, goździki). Kawy o większej granulacji, zmielono w młynku laboratoryjnym do postaci proszku o wielkości cząstek <250 µm, w celu uzyskania próbek ujednoczonych.

W celu przygotowania metanolowego ekstraktu do ujednoczonej próbki produktu (2 g), dodano 20 cm³ 80% metanolu i całość wytrząsano przez 30 minut w temperaturze pokojowej

w termomikserze typu Comfort firmy Eppendorf AG (Hamburg, Niemcy). Po tym czasie mieszaninę odwirowano w wirówce typu 5417R firmy Eppendorf i zlano roztwór z nad osadu. Kolejne ekstrakcje prowadzono przez 5 minut, aż do uzyskania bezbarwnego roztworu nad osadem. Połączone ekstrakty poddano odparowaniu w wyparce próżniowej typu R-200 firmy Büchi Labortechnik (Flawil, Szwajcaria), następnie pobrano analizowane ekstrakty metanolowe a oznaczenia przygotowano w dwóch równoległych powtórzeniach.

Wodne ekstrakty (napary) przygotowano zgodnie z zaleceniami producenta. Ekstrakcję przeprowadzono metodą imersji, poprzez zalanie odpowiedniej ilości próbki kawy, zalecaną przez producenta ilością wody o temperaturze 100°C. Przed analizami napar ostudzono do temperatury pokojowej. Dla każdego rodzaju kawy przygotowano po dwa ekstrakty w tych samych warunkach.

Całkowitą zawartość związków fenolowych oznaczono kolorymetrycznie z odczynnikiem Folina-Ciocalteu (Prior i in. 2005). 100 µl ekstraktu pobrano do próbówki o pojemności 15 ml, następnie dodano 500 µl odczynnika Folina-Ciocalteu (rozcieńczonego wodą w stosunku 1:2), 3 ml roztworu węgla sodu (14% wodny roztwór) i 6400 µl wody destylowanej. Próbkę inkubowano w temperaturze pokojowej, bez dostępu światła przez 1 h. Po tym czasie mieszaninę wirowano 10 min (16000 obr./min) w wirówce typu 5417R firmy Eppendorf, a następnie zmierzono absorbancję roztworu z nad osadu wobec próbki ślepej przy długości fali 720 nm, przy użyciu aparatu FLUOStar firmy OMEGA BMG (Ortenberg, Niemcy). Próbkę ślepa przygotowano w ten sam sposób jak właściwą, ale ekstrakt zastępowano taką samą objętością wody destylowanej. Zawartość związków fenolowych obliczono na podstawie krzywej wzorcowej sporządzonej dla różnych stężeń D-katechiny w wodzie. Oznaczenie wykonano w dwóch równoległych powtórzeniach.

Aktywność przeciwutleniającą oznaczono metodą wykorzystującą syntetyczny rodnik DPPH (Yang i in. 2014). Przygotowanie próbki do analizy polegało na odmierzeniu 100 µl ekstraktu i dodaniu 2400 µl roztworu rodnika DPPH (0,006 g rodnika w 250 ml metanolu). Po upływie 16 minut od dodania roztworu rodnika, dokonano pomiaru absorbancji przy długości fali 515 nm wobec metanolu jako próby ślepej. Zmierzono również absorbancję próbki zerowej przygotowanej przez zmieszanie 100 µl metanolu i 2400 µl roztworu rodnika DPPH. Na podstawie tych wyników obliczono % zmiatania rodnika DPPH według wzoru (%inhibicji = $100(A_0 - A_{sr})/A_0$; gdzie A_{sr} – średnia wartość absorbancji badanego roztworu; A_0 – absorbancja roztworu rodnika DPPH). Wyniki te odniesiono do wyników uzyskanych dla różnych rozcieńczeń troloksu (TE) w metanolu. Sposób postępowania był taki sam, jak w przypadku

próbki właściwej. Do pomiaru absorbancji wykorzystano aparat FLUOStar firmy OMEGA BMG. Oznaczenie wykonano w dwóch równoległych powtórzeniach.

Wyniki badań

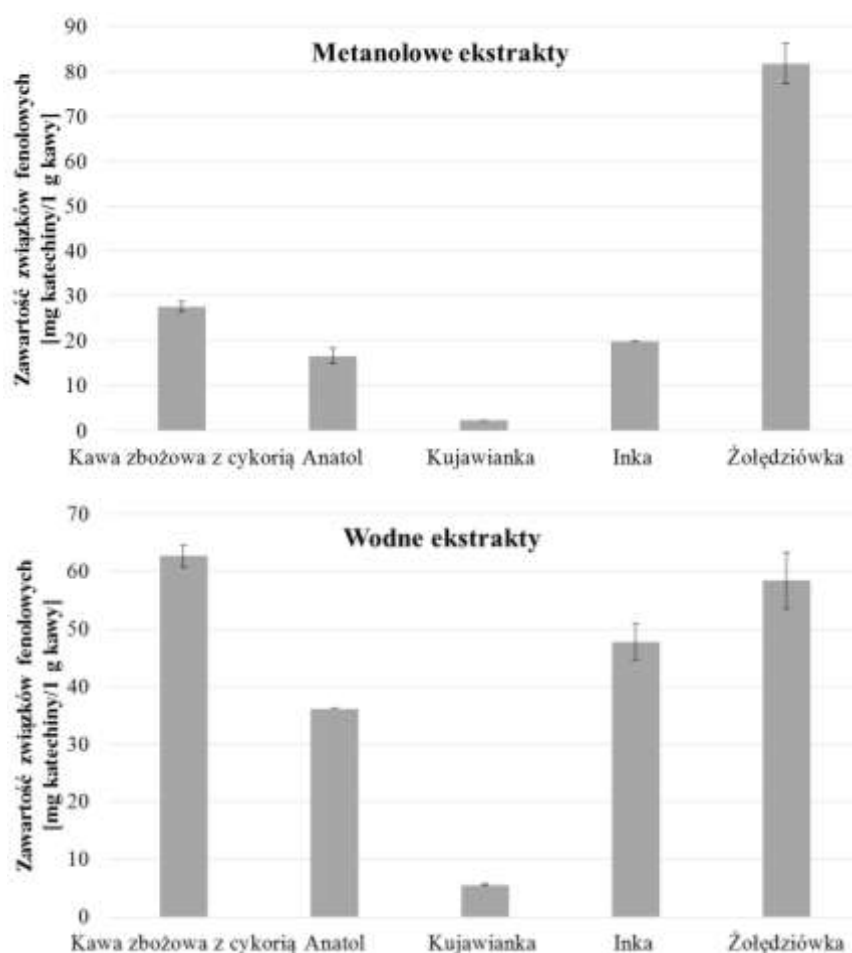
Wyniki zawartości związków fenolowych rozpuszczalnych w wodzie i metanolu, przedstawiono na rysunku 1. W przypadku związków fenolowych, rozpuszczalnych w 80% metanolu, największą ich zawartość (81,75 mg/g) stwierdzono w kawie „Żołędziówka”, a najmniej tych związków, (2,21 mg/g) występowało w kawie „Kujawianka”. Pozostałe kawy zawierały te związki w zakresie od 16,59 do – 27,56 mg/g. W przypadku związków fenolowych rozpuszczalnych w wodzie, również wyróżniała się kawa „Kujawianka”, w której stwierdzono najmniejszą zawartość (5,54 mg/g). W pozostałych kawach tych związków stwierdzono wielokrotnie więcej. W kawie „Anatol” było 6,5 razy więcej, natomiast w „Kawie zbożowej z cykorią” aż 11,3 razy więcej. Worobiej i Relidzińska (2011) uzyskały porównywalne wyniki zawartości związków fenolowych rozpuszczalnych w metanolu w analizowanych przez nich próbkach kaw zbożowych, rozpuszczalnych i nie rozpuszczalnych.

Analizując uzyskane wyniki, można zauważyć, że w kawach zbożowych występują związki, które lepiej rozpuszczają się w wodzie niż w wodnym roztworze metanolu. Wyjątek stanowiła jedynie kawa „Żołędziówka”, w której zawartość tych związków w małym stopniu zależała od użytego do ich ekstrakcji rozpuszczalnika. Choć wodny roztwór metanolu jest przez wielu badaczy zalecany do ekstrakcji związków fenolowych z większości surowców i produktów roślinnych, to zasadnym wydaje się dobieranie rozpuszczalnika do rodzaju rośliny. Należy uwzględnić również warunki procesu technologicznego, ponieważ procesy obróbki (np. procesy termiczne, hydrotermiczne, mikrofalowanie, procesy wysokociśnieniowe), mogą również wpływać na zmiany w budowie związków fenolowych (Matyjaszczyk 1997). Na uzyskane wyniki mogły mieć również warunki przechowywania oraz rodzaj użytego opakowania. Kawa „Kujawianka” jako jedyna była zapakowana w papier, co umożliwiło reakcje z tlenem atmosferycznym i utlenienie się związków fenolowych.

Wyniki aktywności przeciwutleniającej oraz innych rozpuszczalnych w wodnym roztworze metanolu i wodzie związków przedstawiono na rysunku 2. Na podstawie uzyskanych wyników zauważono, że związki rozpuszczalne w metanolu, wykazywały znacznie silniejsze właściwości przeciwutleniające niż te rozpuszczalne w wodzie. Cztery rodzaje kaw („Kawa zbożowa z cykorią”, „Anatol”, „Kujawianka”, „Inka”) zawierały związki rozpuszczalne w metanolu, cechujące się zbliżoną aktywnością przeciwutleniającą, natomiast związki zawarte

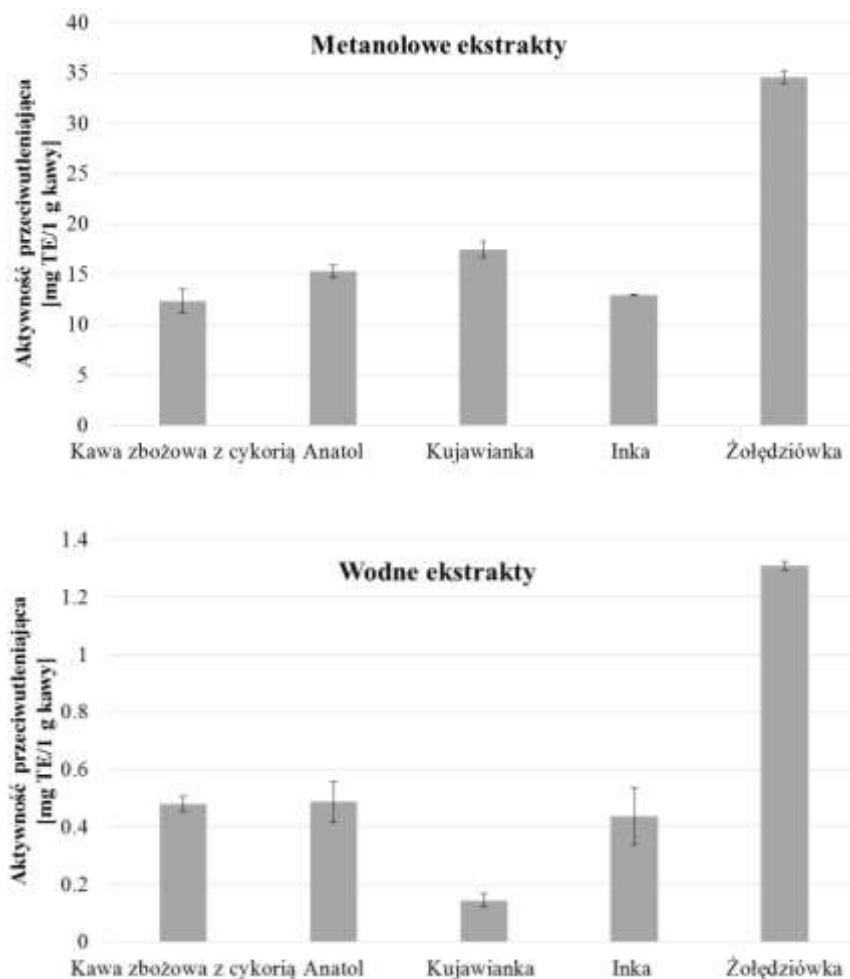
w kawie „Żołędziówka”, wykazywały aż 2-3 krotnie wyższą zdolność do zmiatania rodnika DPPH. Kawa ta wyróżniała się również pod względem aktywności przeciwutleniającej związków rozpuszczalnych w wodzie. Aktywność tych związków w 1 g kawy, odpowiadał 1,31 mg TE. Z kolei najmniejszą aktywność (odpowiadającą 0,14 mg TE) wykazywały składniki zawarte w 1 g kawy „Anatol”. Pozostałe kawy były pod tym względem porównywalne. Należy zaznaczyć, że kawa „Inka” jako jedyna z badanych próbek, była kawą rozpuszczalną, jednak pod względem aktywności przeciwutleniającej, nie różniła się ona istotnie od pozostałych kaw nierozpuszczalnych o podobnym składzie („Kujawianka”). Można zatem stwierdzić, że kawy zbożowe nierozpuszczalne i typu instant, charakteryzują się zbliżoną zawartością związków fenolowych i zdolnością przeciwutleniającą. Na zróżnicowanie kaw handlowych pod względem aktywności przeciwutleniającej, wskazują również badania Worobiej i Relidzińskiej (2011).

Rysunek 1. Zawartość związków fenolowych w kawie zbożowej, z podziałem na rozpuszczalne w 80% metanolu (ekstrakty metanolowe) i wodzie (ekstrakty wodne)



Źródło: Opracowanie własne.

Rysunek 2. Zdolność przeciwutleniająca związków zawartych w kawach zbożowych, z podziałem na rozpuszczalne w 80% metanolu (ekstrakty metanolowe) i wodzie (ekstrakty wodne)



Źródło: Opracowanie własne.

Porównując wyniki zawartości związków fenolowych do wyników aktywności przeciwutleniającej stwierdzono, że istnieją pomiędzy nimi związki korelacyjne. Współczynniki korelacji obliczone dla tych zależności były dodatnie i wynosiły 0,87 i 0,64 odpowiednio dla związków rozpuszczalnych w 80% metanolu i wodzie. Świadczy o tym, że kawy zbożowe, które zawierają więcej związków fenolowych, będą cechowały się większą aktywnością przeciwutleniającą.

Do niedawna uważano, że stosowane w przemyśle spożywczym procesy technologiczne są główną przyczyną degradacji naturalnych przeciwutleniaczy surowców roślinnych i obniżenia ich aktywności przeciwutleniającej, ale okazuje się, że ten wpływ jest niejednoznaczny. Zmniejszenie zawartości przeciwutleniaczy, poprzez rozkład ścian komórkowych, pod wpływem obróbki termicznej lub hydrolizy enzymatycznej w produkcie gotowym, może wpływać na zwiększenie ich aktywności przeciwutleniającej ze względu

na łatwiejszą dostępność pozostałych przeciwutleniaczy. Do przyczyn obniżających potencjał przeciwutleniający podczas przetwarzania surowców pochodzenia roślinnego, zalicza się: utlenienie przeciwutleniacza, kompleksowanie z innymi składnikami żywności i modyfikacje enzymatyczne. Zaobserwowano że każda czynność w procesie obróbki surowców wpływają na potencjał oksydacyjny. Przykładowo proces rozdrabniania obniża potencjał oksydacyjny produktów pochodzenia roślinnego o 15 do 60% (Gumul 2007). Niestety niewiele jest danych dotyczących wpływu procesu produkcji kaw zbożowych na zawartość związków fenolowych i ich aktywność przeciwutleniającą, dlatego badania w tym kierunku powinny być nadal prowadzone.

Wnioski

Handlowe kawy zbożowe są bardziej zróżnicowane pod względem zawartości związków fenolowych niż pod względem aktywności przeciwutleniającej.

Kawy zbożowe zawierają więcej związków fenolowych rozpuszczalnych w wodzie niż rozpuszczalnych w wodnym roztworze metanolu (typowym rozpuszczalniku używanym przy oznaczaniu związków fenolowych w produktach spożywczych).

Niezależnie od zastosowanego do ekstrakcji rozpuszczalnika, najwięcej związków fenolowych jest w kawie „Żołędziówka”.

Związki fenolowe oraz inne rozpuszczalne w wodnym roztworze metanolu i w wodzie, zawarte w kawie „Żołędziówka”, cechują się generalnie większą aktywnością przeciwutleniającą niż w innych kawach zbożowych.

Kawa „Kujawianka” zawiera najmniej związków fenolowych rozpuszczalnych w wodzie i wykazują one najmniejszą aktywność przeciwutleniającą. Natomiast ekstrakty metanolowe tej kawy, charakteryzują się wysoką aktywnością przeciwutleniającą.

Literatura

- Ambroziak Z. 1999. *Produkcja piekarsko-ciastkarska. Cz. 2.* WSiP, Warszawa.
- Ball S. 2001. *Antyoksydanty w medycynie i zdrowiu człowieka.* Wyd. Medyk, Warszawa.
- Cämmerer B., Kroh L.W. 2006. *Antioxidant activity of coffee brews.* Eur. Food Res. Technol., 223: 469-474.
- Chrostowska-Siwiek I. 2001. *Związki lotne jako wyróżniki zmian przechowalniczych kawy.* Praca doktorska. UE Poznań.
- Flament I. 2002. *Coffee flavor chemistry.* Wiley.
- Gąsiorowski H. 1997. *Jęczmień – chemia i technologia.* PWRiL, Poznań.
- Gąsiorowski H. 1994. *Żyto – chemia i technologia.* PWRiL, Poznań.

- Gąsiorowski H. 2004. *Pszenica – chemia i technologia*. PWRiL, Poznań.
- Gumul D., Korus J., Achremowicz B. 2007. *Wpływ ekstruzji na zawartość polifenoli oraz aktywność przeciwrodnikową i przeciwutleniającą ziaren żyta (*Secale cereal L.*)*. Acta Sci. Pol., Technol. Aliment., 6(4): 103-111.
- Hrankowski H. 1976. *Kawa, surowiec, technologia*. Wydawnictwa Naukowo-Techniczne, Warszawa.
- Jankowski S. 1988. *Surowce mączne i kaszowe*. WNT, Warszawa: 26-33.
- Jeleń H.H. 2004. *Związki zapachowe żywności wyzwanie dla analityka*. Przem. Spoż., 2004/5: 18-21.
- Klepacka J., Fornal Ł. 2008. *Określenie zależności między zawartością wybranych związków fenolowych a wartością przemiałową ziarna pszenicy*. Żywn. Nauka. Technol. Jak., 6(61): 55-64.
- Kobielska Z. 2009. *Kawa nie boi się kryzysu*. Fresh & Cool Market, 2009/7: 15-17.
- Kopcewicz J., Lewak S. 1998. *Podstawy fizjologii roślin*. PWN, Warszawa: 188-205.
- Krełowska-Kułas M. 1993. *Badanie jakości produktów spożywczych*. PWE, Warszawa.
- Marciniak A., Obuchowski W. 2006. *Prozdrowotne właściwości ziarna zbóż*. Przegl. Zboż. Młyn., 5: 11-13.
- Matyjaszczyk E. 1997a. *Zmiany jakości kawy palonej*. Przem. Spoż., 1997/9: 40-41.
- Mitek M., Słowiński M. 2006. *Wybrane zagadnienia z technologii żywności*. Wyd. SGGW, Warszawa.
- Prior R.L., Wu X., Schaich, K. 2005. *Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in food and dietary supplements*. J. Agric. Food Chem., 53: 4290-4302.
- Singleton V.L., Rossi J.A. 1965. *Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents*. Am. J. Enol. Viticul., 16: 144-158.
- Świetlikowska K. 2006. *Surowce spożywcze pochodzenia roślinnego*. Wyd. SGGW, Warszawa.
- Tarasiewicz K. 2009. *Kawa i herbata na ziemiach polskich. Handel, konsumpcja, obyczaje*. Wyd. SGGW, Warszawa.
- Worobiej E., Relidzińska K. 2011. *Kawy zbożowe - charakterystyka i właściwości przeciwutleniające*. Bromat. Chem. Toksykol., 44(3): 625-629.
- Zieliński H., Achremowicz B., Przygodzka M. 2012. *Przeciwutleniacze ziarniaków zbóż*. Żywn. Nauka. Technol. Jak., 1(80): 5-26.
- Yang, L., Zhang, H., Cheng, L., Gu, Z., Hua, D., Qi, X., Qian, H., Wang, L. 2014. *Effect of extrusion on the hydrophilic antioxidant capacity of four whole grains*. J. Food Nutr. Res., 2: 80-87.

Karotenoidy w olejach tłoczonych na zimno Carotenoids in cold pressed oils

Natalia Mikołajczak

Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie
Wydział Nauki o Żywności
Studenckie Koło Naukowe Technologów Przetwórstwa Surowców Roślinnych
Opiekun naukowy: dr hab. inż. Małgorzata Tańska, prof. UWM.

Abstract

Oils play a significant role in human nutrition, they are a source of many biologically active compounds, i.a. carotenoids. These compounds are involved in the process of seeing, maintaining the integrity of cell membranes, in bone development, and also provide adequate skin, hair and nails. In addition, carotenoids have antioxidant properties, thanks to which they can inactivate free radicals formed during metabolic processes.

The aim of the work was the review and collection of numerical literature data on the content of carotenoids in cold pressed plant oils.

The collected literature data showed that the content of carotenoids in cold pressed oils is highly diversified. A valuable source of carotenoids are sea-buckthorn oil (206.04 mg/100 g) and palm fruit oil (122.23 mg/100 g). Oils such as sunflower oil, evening primrose oil, amaranth oil, borage oil and peanut oil have a low content of carotenoids (0.18 - 0.30 mg/100 g). The main carotenoids found in cold-pressed oils are lutein (3.26 mg/100 g - rapeseed oil, 3.24 mg/100 g - sea buckthorn oil) and β -carotene (5.03 mg/100 g - rapeseed oil). The content of other carotenoids (zeaxanthin, cryptoxanthin, α -carotene) reaches up to 0.36 mg/100 g.

Keywords: carotenoids, carotens, xanthophylls, cold pressed oils

Wstęp

Rosnąca świadomość konsumentów w aspekcie żywności i żywienia sprawia, że przywiązują oni coraz większą uwagę do tych elementów diety, które warunkują zachowanie zdrowia i dobrego samopoczucia (Obiedzińska i Waszkiewicz-Nowak 2012). W rezultacie, konsumenci coraz częściej wybierają produkty żywnościowe o właściwościach prozdrowotnych, które dodatkowo cechują się minimalnym stopniem przetworzenia. Do grupy produktów łączących obie te cechy, zalicza się oleje roślinne uzyskane metodą tłoczenia na zimno (Wroniak i Krygier 2006).

Oleje mogą być pozyskiwane z różnych części roślin, m.in. nasion, pestek, owoców, orzechów, a nawet kiełków roślinnych (Sionek 1997). Podaje się, że ze względu na opłacalność przerobową, udział tłuszczu w surowcach przeznaczonych do produkcji oleju, powinien wynosić co najmniej 15%. Wyjątek mogą stanowić nasiona amarantusa, w których udział

tłuszczu kształtuje się na poziomie wynoszącym średnio 6,5% (Obiedzińska i Waszkiewicz-Nowak 2012).

Tłoczenie na zimno jest naturalną, a zarazem najstarszą metodą otrzymywania olejów (Obiedzińska i Waszkiewicz-Nowak 2012). Zgodnie z Kodeksem Żywnościowym (Codex Alimentarius Standard 210-1999), zasada tej metody opiera się na wykorzystaniu procesów mechanicznych (tłoczenie) i wykluczeniu zastosowania wysokiej temperatury. W praktyce, do tłoczenia na zimno stosuje się prasy ślimakowe (temperatura tłoczenia nie przekracza 50°C) lub prasy hydrauliczne (temperatura tłoczenia odpowiada temperaturze otoczenia). Obniżenie temperatury podczas procesu tłoczenia, zapewnia uzyskanie oleju o dobrych właściwościach zarówno sensorycznych, jak i fizykochemicznych (Górecka i in. 2003). Cechą charakterystyczną olejów tłoczonych na zimno, jest również zastąpienie tradycyjnej rafinacji procesami fizycznymi, które mają na celu ograniczenie do minimum zmiany oksydacyjne w wyrobie (Mińkowski i in. 2010).

Wartość żywieniową olejów roślinnych determinuje głównie skład kwasów tłuszczowych, w szczególności kwasów tłuszczowych nienasyconych (Dąbrowski i Konopka 2016). Obok nich, w olejach roślinnych, obecne są również inne związki, o dużej aktywności biologicznej, w tym karotenoidy (Simas i in. 2010) stanowiące jedną z ważniejszych klas barwników roślinnych (Eldahshan i Singab 2013).

Nadrzędnym celem niniejszej pracy był przegląd i zbiór liczbowych danych na temat zawartości karotenoidów w olejach roślinnych, uzyskanych za pomocą tłoczenia na zimno.

Ogólna charakterystyka karotenoidów

Pod względem strukturalnym i funkcjonalnym, karotenoidy stanowią zróżnicowaną grupę barwników naturalnych o charakterze polienowym (alkohole, estry, ketony, kwasy i węglowodory) (Buzzini i in. 2007). Szacuje się, że dotychczas zidentyfikowano prawie 750 karotenoidów, z czego ponad 50 jest obecnych w składzie codziennej diety człowieka (Arathi i in. 2005).

Główny trzon cząsteczki karotenoidów C40 (40-węglowych) stanowi osiem jednostek izoprenowych, tworzących dwa pierścienie cykloheksylowe, połączone łańcuchem o układzie sprzężonych wiązań podwójnych (Yourkov i in. 2008). Taka struktura występuje u większości związków tej grupy i łatwo ulega modyfikacji – izomeryzacji *cis-trans*-, cyklizacji, glikozylacji czy acetylacji. Bardziej zaawansowane zmiany strukturalne w cząsteczce, mogą prowadzić

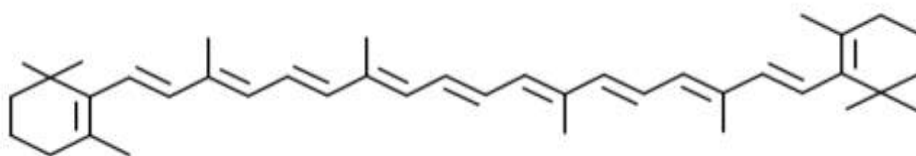
do powstawania karotenoidów C50 (wydłużenie łańcucha węglowego) lub C30 (kondensacja dwóch jednostek farnezylu) (Fiedor i Burda 2014).

Różnice w budowie łańcucha poliizoprenoidowego stanowią podstawę podziału karotenoidów na dwie grupy – karoteny (np. α -, β -, γ -karoten, likopen) i ksantofile (np. luteina, zeaksantyna, wiolaksantyna) (Michalak i in. 2018). Karoteny obejmują związki zbudowane jedynie z atomów węgla i wodoru (najczęściej stabilne termodynamicznie izomery *trans*) oraz związki o krótszych łańcuchach węglowych, zawierające centralny fragment karotenu z czterema grupami metylowymi. Taka budowa karotenów warunkuje ich niską polarność i absorpcję promieniowania w zakresie 400-650 nm. Natomiast ksantofile (tlenowe pochodne karotenów) cechują się obecnością w cząsteczce przynajmniej jednego atomu tlenu, co bezpośrednio przekłada się na ich wyższe właściwości polarne. Związki te absorbują promieniowanie o mniejszych długościach fal niż pozostałe karotenoidy (Gryszczyńska i in. 2011). Strukturę chemiczną wybranych karotenoidów przedstawiono na rysunku 1.

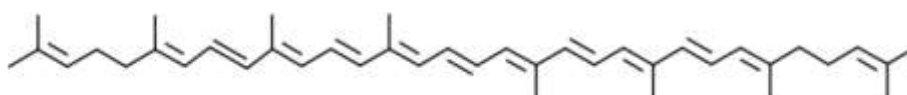
Obecność sprzężonych wiązań podwójnych w cząsteczce, warunkuje właściwości i działanie karotenoidów (Michalak i in. 2018). Związki te rozpuszczają się w tłuszczach i ich rozpuszczalnikach takich jak: aceton i chloroform, natomiast ksantofile wykazują także dobrą rozpuszczalność w alkoholach (Rotkiewicz i in. 2002). Ponadto, cechą charakterystyczną karotenoidów jest silne zabarwienie. Warunkiem występowania barwy żółtej, pomarańczowej bądź czerwonej, jest obecność co najmniej 7 sprzężonych wiązań podwójnych w cząsteczce (Fiedor i Burda 2014).

Rysunek 1. Struktura karotenoidów – karoteny: a) β -karoten, b) likopen i ksantofile c) luteina d) zeaksantyna.

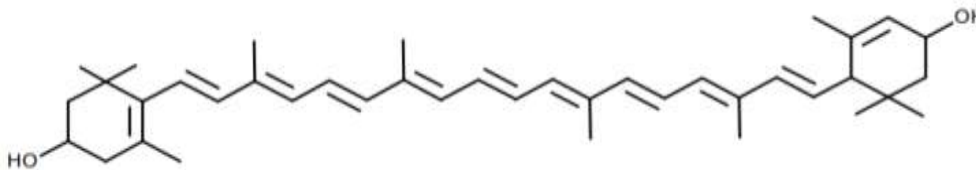
a)



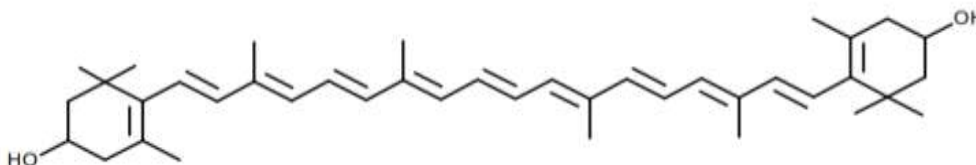
b)



c)



d)



Źródło: opracowanie własne za pomocą ISIS Draw 2.3 (MDL Information Systems, San Leandro, CA, USA) na podstawie Mezzomo i Ferreira (2016).

Aktywność biologiczna karotenoidów

Dane literaturowe wskazują, że karotenoidy pełnią wiele ważnych funkcji w organizmach żywych, m.in. stymulują system odpornościowy, regulują cykl komórkowy i apoptozę komórek, modulują międzykomórkowe ścieżki sygnałowe (Yourkov i in. 2008). Udowodniono, że karotenoidy są silnymi przeciwutleniaczami, dezaktywują wolne rodniki, wygaszają tlen singletowy i biorą udział w fotoprotekcji (Mezzomo i Ferreira 2016). Antyoksydacyjne właściwości karotenoidów determinują również ich oddziaływanie przeciwzapalne oraz przeciwnowotworowe (Miyashita i in. 2011). Wyniki wielu badań wskazują na silną korelację między poziomem karotenoidów ogółem w diecie a zmniejszonym ryzykiem zapadalności na nowotwory, w szczególności prostaty (Mingez-Mosquera i in. 2002), płuc (Gryszczyńska i Gryszczyńska 2011) i skóry (Muszyńska i in. 2016). Ponadto, karotenoidy wpływają na redukcję otyłości, przeciwdziałają cukrzycy i są skuteczne w profilaktyce chorób układu sercowo-naczyniowego (Nagao 2009; Buzzini i in. 2007).

Aktywność prowitaminowa jest najbardziej znaną właściwością karotenoidów, przy czym wykazują ją tylko te związki, w których fragmenty strukturalne są identyczne z cząsteczką retinolu (czyli β -jononu). W strukturze β -karotenu wyróżnia się aż dwa wiązania β -jononowe, co świadczy o jego najwyższej spośród karotenów, aktywności witaminy A (Igielska-Kalwat i in. 2012). Witamina A zapewnia prawidłowy stan nabłonków, wpływa na rozwój embrionalny i płodność, pobudza szpik kostny do produkcji czerwonych krwinek a także przyspiesza gojenie się ran (Mezzomo i Ferreira 2016).

Dane uzyskane z badań klinicznych wskazują, że niedobór karotenoidów w diecie, zwiększa ryzyko zwyrodnienia plamki żółtej, która stanowi główną przyczynę upośledzenia narządu wzroku i zaćmy u osób starszych (Loskutova i in. 2013). Niedobór karotenoidów powoduje również obniżenie odporności organizmu, co prowadzi do zwiększonej podatności na choroby zapalne (Austin i in. 2006). Jednakże, również i nadmiar karotenoidów w diecie (w szczególności witaminy A) jest toksyczny dla organizmu człowieka, co w rezultacie może doprowadzić nawet do śmierci (Khachik 2006).

Karotenoidy w olejach tłoczonych na zimno

W olejach tłoczonych na zimno, zawartość karotenoidów jest wysoce zróżnicowana, mieści się w granicach od 0,18 (olej ogórecznikowy i olej pistacjowy) do nawet 206,04 (olej rokitnikowy) mg, w przeliczeniu na 100 g (Tab. 1).

Oprócz oleju rokitnikowego, karotenoidy w większej ilości występują również w oleju palmowym (z owoców palmy oleistej, 122,23 mg/100 g) oraz oleju winogronowym (średnia ich zawartość wynosi 44,83 mg β -karotenu/100 g). Prawie 3-krotnie niższą zawartością karotenoidów (w porównaniu do oleju winogronowego) cechują się olej lniankowy (16,01 mg β -karotenu/100 g) oraz olej lniany (14,75 mg β -karotenu/100 g). Mińkowski i in. (2010) stwierdzili, że zawartość karotenoidów w oleju zmięgowcowym i oleju ogórecznikowym, wynosi nieco ponad 4 mg/100 g.

Zawartość karotenoidów w pozostałych olejach nie przekracza 2 mg/100 g – w oleju gorczycowym wynosi 1,89 mg luteiny/100 g, w oleju pistacjowym 1,48 mg/100 g, w oleju rzepakowym 1,20 mg luteiny/100 g, natomiast w oleju dyniowym 1,16 mg/100 g. Olej kukurydziany zawiera 2,5-krotnie mniej karotenoidów niż olej pistacjowy (0,74 mg/100 g), podobnie jak olej z pestek czarnej porzeczki (0,72 mg β -karotenu/100 g) i olej oliwkowy (0,62 mg luteiny/100 g).

Najniższe zawartości karotenoidów ogółem stwierdza się w oleju słonecznikowym, oleju wiesiołkowym, oleju amarantusowym i oleju arachidowym. Zawartość karotenoidów jest ponad 6÷7-krotnie niższa w porównaniu do oleju gorczycowego i wynosi odpowiednio 0,31 mg luteiny, 0,30 mg, 0,24 mg, 0,18 mg w przeliczeniu na 100 g oleju.

Warto zwrócić uwagę, że autorzy podają odmienne wyniki zawartości karotenoidów ogółem, w olejach tłoczonych na zimno z tego samego surowca. Na przykład Mińkowski i in. (2010) stwierdzili, że zawartość karotenoidów w oleju lnianym wynosi 14,75 mg β -karotenu/100 g, podczas gdy Czaplicki i in. (2016b) oszacowali ich zawartość na poziomie

jedynie 0,48 mg/100 g. Podobnie zróżnicowana jest zawartość karotenoidów w oleju ogórecznikowym. W pracy Mińkowski i in. (2010) wynosiła ona 4,17 mg β -karotenu/100 g, a w pracy Czaplickiego i in. (2016b) 0,18 mg/100 g. W analizie wyników, podanych przez Shinagawę i in. (2018), stwierdzono prawie 2-krotną różnicę między zawartościami karotenoidów ogółem w olejach winogronowych. Rotkiewicz i in. (2002) sugerują, że różnice w zawartości karotenoidów w olejach, mogą wynikać zarówno z surowca, w tym gatunku i stopnia dojrzałości, jak i sposobu wydobycia i oczyszczania oleju.

Tab. 1. Zawartość karotenoidów [mg/100 g] w olejach tłoczonych na zimno

Olej	Zawartość w 100 g produktu	Źródło
amarantusowy	0,24 mg	Czaplicki i in. 2016b
z pestek czarnej porzeczki	0,72 mg β -karotenu	Mińkowski i in. 2010
dyniowy	0,29 mg β -karotenu	Raczyk i in. 2017
	0,54 mg β -karotenu	Raczyk i in. 2017
	1,16 mg	Czaplicki i in. 2016b
gorczycowy	1,89 mg luteiny	Konuskan i in. 2018
lniankowy	16,01 mg β -karotenu	Mińkowski i in. 2010
lniany	14,75 mg β -karotenu	Mińkowski i in. 2010
	0,48 mg	Czaplicki i in. 2016a
rokitnikowy	206,04 mg	Czaplicki i in. 2016b
rzepakowy	1,20 mg luteiny	Konuskan i in. 2018
słonecznikowy	0,31 mg luteiny	Konuskan i in. 2018
ogórecznikowy	4,17 mg β -karotenu	Mińkowski i in. 2010
	0,18 mg	Czaplicki i in. 2016a
arachidowy	0,18 mg luteiny	Konuskan i in. 2018
oliwkowy	0,62 mg luteiny	Konuskan i in. 2018
wiesiołkowy	0,30 mg	Czaplicki i in. 2016a
winogronowy	51,67 mg β -karotenu	Shinagawa i in. 2018
	59,85 mg β -karotenu	Shinagawa i in. 2018
	33,94 mg β -karotenu	Shinagawa i in. 2018
	33,85 mg β -karotenu	Shinagawa i in. 2018
żmijowcowy	4,21 mg β -karotenu	Mińkowski i in. 2010
kukurydziany	0,74 mg	Güneşer i in. 2017
pistacjowy	1,48 mg	Saber-Tehrani i in. 2013
palmowy	122,23 mg	Santos i in. 2015

Źródło: Opracowanie własne.

Zawartość poszczególnych karotenoidów

Zebrane dane literaturowe wskazują, że karotenoidem najczęściej występującym w olejach tłoczonych na zimno jest ksantofil oraz luteina. Jej zawartość kształtuje się w granicach od 0,03 (olej dyniowy) do 3,26 (olej rzepakowy) mg w 100 g oleju (Tab. 2).

Zbliżoną do oleju rzepakowego zawartością luteiny, cechuje się olej rokitnikowy (3,24 mg/100 g), natomiast olej lniany zawiera jej prawie 2-krotnie mniej. Najniższą zawartość luteiny stwierdza się w oleju dyniowym (średnio 0,08 mg/100 g), oleju wiesiołkowym (0,07 mg/100 g) i oleju ogórecznikowym (0,09 mg/100 g). W pozostałych olejach, luteina występuje na średnim poziomie zawartości i osiąga wartość nie większą niż 0,5 mg/100 g.

Inne ksantofile obecne w olejach tłoczonych na zimno to zeaksantyna i kryptoksantyna (Tabela 2). Obecność zeaksantyny stwierdza się w olejach tradycyjnych takich jak olej lniany, olej rzepakowy oraz olej oliwkowy, w ilościach wynoszących odpowiednio 0,11, 0,08 i 0,12 mg/100 g. Natomiast kryptoksantyna obecna jest jedynie w oleju dyniowym i wynosi średnio 0,16 mg/100 g.

Tab. 2. Zawartość poszczególnych karotenoidów [mg/100 g] w olejach tłoczonych na zimno

Olej	Zawartość poszczególnych karotenoidów [mg/100 g]						Źródło
	luteina	zeaksantyna	kryptoksantyna	α -karoten	β -karoten	inne	
amarantusowy	0,13	bd.	bd.	bd.	bd.	0,11	Czaplicki i in. 2016b
dyniowy	0,50	bd.	bd.	bd.	bd.	0,66	Czaplicki i in. 2016b
	0,12	bd.	0,27	0,02	0,01	bd.	Raczyk i in. 2017
	0,03	bd.	0,05	0,12	0,21	bd.	Raczyk i in. 2017
lniany	0,22	bd.	bd.	bd.	bd.	0,26	Czaplicki i in. 2016a
	1,16	0,11	bd.	śląd.	3,49	bd.	Tańska i in. 2018
ogórecznikowy	0,09	bd.	bd.	bd.	bd.	0,08	Czaplicki i in. 2016a
oliwkowy	0,44	0,12	bd.	0,36	1,88	bd.	Tańska i in. 2018
rokitnikowy	3,24	bd.	bd.	bd.	bd.	193,18	Czaplicki i in. 2016b
rzepakowy	3,26	0,08	bd.	śląd.	5,03	bd.	Tańska i in. 2018
wiesiołkowy	0,07	bd.	bd.	bd.	bd.	0,23	Czaplicki i in. 2016a

bd. – brak danych; ślad. – śladowe ilości

Źródło: Opracowanie własne.

Zawartość α -karotenu w oleju oliwkowym wynosi 0,36 mg/100 g, natomiast w oleju dyniowym stwierdza się obecność tego związku na poziomie ponad 5-krotnie niższym (tabela 2). Tańska i in. (2018) w swojej pracy podali, że α -karoten występuje również, chociaż w śladowych ilościach, w oleju lnianym i oleju rzepakowym.

Głównym przedstawicielem karotenów w olejach tłoczonych na zimno jest β -karoten (Rafałowski i in. 2008), który w dominujących ilościach występuje w oleju rzepakowym

(5,03 mg/100 g) i oleju lnianym (3,49 mg/100 g) (Tabela 2). Zawartość β -karotenu w oleju oliwkowym jest ponad 2,5-krotnie niższa niż w oleju rzepakowym. Badania Raczyk i in. (2017) wykazały, że β -karoten obecny jest również w oleju dyniowym i jego zawartość wynosi średnio 0,11 mg/100 g.

W pracy Rafałowskiego i in. (2008) wykazano, że β -karoten występuje przede wszystkim w oleju dyniowym oraz oleju lnianym (15,01 mg/100 g). Z kolei zawartość β -karotenu w oleju rzepakowym była prawie 2-krotnie niższa niż w oleju dyniowym i oleju lnianym. W cytowanej pracy, olej kukurydziany cechował się zawartością β -karotenu w ilości 3,56 mg/100 g, natomiast w oleju sojowym 2,73 mg/100 g. Najniższą zawartość tego karotenoidu, cytowani autorzy zaobserwowali w oleju arachidowym (0,37 mg/100 g).

Badacze w swoich pracach wyróżnili również sumę karotenoidów określanych najczęściej jako inne bądź pozostałe, przy czym w większości analizowanych próbek, ich zawartość była nieznaczna i wahała się w granicach od 0,08 do 0,66 mg/100 g (tabela 2). Jedynie w oleju rokitnikowym, Czaplicki i in. (2016a) oszacowali zawartość tych karotenoidów na poziomie wynoszącym aż 193,18 mg/100 g.

W zależności od ilości wiązań podwójnych obecnych w cząsteczce, istnieją także formy izomeryczne *cis/trans* (E/Z) karotenoidów. Zmiana izomeryzacji z pozycji *mono-* i *poli-cis-*izomerów w formę *all-trans*, zachodzi w wyniku różnych reakcji chemicznych oraz wymaga dostarczenia do układu światła bądź temperatury (Baranski i Cazzonelli 2016). Franke i in. (2010), analizując zawartość karotenoidów w olejach tłoczonych na zimno, wykazali obecność takich izomerów jak *all-E-luteina* i *all-E-zeaksantyna*. Średnie zawartości *all-E-luteiny* i *all-E-zeaksantyny* w oleju rzepakowym wynosiły odpowiednio 1,08 i 0,02 mg/100 g, podczas gdy w oleju słonecznikowym ich zawartości zostały określone jako śladowe. Autorzy stwierdzili również obecność *all-E- β -karotenu*, jednakże jego zawartość została również określona jako śladowa.

Podsumowanie

Karotenoidy stanowią jeden z ważniejszych składników pokarmowych w diecie człowieka, m.in. są silnymi przeciwutleniaczami, warunkują wzrost nabłonka, przyspieszają gojenie się uszkodzeń skóry, biorą udział w procesie widzenia, zapobiegają starzeniu się organizmu. Badania kliniczne potwierdzają, że karotenoidy mogą znacznie zmniejszyć ryzyko rozwoju wielu chorób, w tym układu krążenia i nowotworów, stanowiących główną przyczynę zgonów na całym świecie (Fiedor i Burda 2014).

Zebrane dane literaturowe wykazały, że zawartość karotenoidów w olejach tłoczonych na zimno, jest wysoce zróżnicowana. Cennym źródłem karotenoidów jest przede wszystkim olej rokitnikowy oraz olej palmowy (z owoców palmy oleistej), jednakże znaczne ich ilości stwierdza się również w oleju winogronowym, oleju lnianym i oleju lniankowym. Oleje takie jak słonecznikowy, wiesiołkowy, amarantusowy, ogórecznikowy oraz arachidowy, cechują się niską zawartością tych składników.

Głównymi karotenoidami występującymi w olejach tłoczonych na zimno, są luteina (ksantofile) i β -karoten (karoteny). Znaczne ilości luteiny stwierdza się w oleju rokitnikowym i oleju rzepakowym, natomiast źródłem β -karotenu są oleje tradycyjne takie jak olej lniany i olej rzepakowy. Ponadto, olej oliwkowy zawiera znaczne ilości zeaksantyny i α -karotenu a olej dyniowy kryptoksantyny.

Literatura

- Arathi B.P., Sowmya P.R., Vijay K., Baskaran V., Lakshminarayana R. (2005). *Metabolomics of carotenoids: the challenges and prospects: a review*. Trends Food Sci Technol., 45: 105-117.
- Austin J., Singhal N., Voight R., Smaill F., Gill M. J., Walmsley S., Salit I., Gimour J., Schlech W. F., Choudhri S., Rachlis A., Cohen J., Trottier S., Toma E., Phillips P., Ford P. M., Woods R., Singer J., Zarowny D.P., Cameron D.W. (2006). *A community randomized controlled clinical trial of mixed carotenoids and micronutrient supplementation of patients with acquired immunodeficiency syndrome*. Eur J Clin Nutr., 60: 1266-1276.
- Baranski R., Cazzonelli C.I. (2016). *Carotenoid biosynthesis and regulation in plants* [w:] *Carotenoids in Nutrition: Therapy, Spectroscopy and Technology*. Wiley Blackwell, UK: 159-189.
- Buzzini P., Innocenti M., Turchetti B., Libkind D., van Broock M., Mulinacci N. (2007). *Carotenoid profiles of yeasts belonging to the genera Rhodotorula, Rhodosporidium, Sporobolomyces, and Sporidiobolus*. Can J Microbiol., 53: 1024-1031.
- Codex Alimentarius Standard 210-1999. *Codex standard for named vegetable oil*.
- Czaplicki S., Tańska M., Konopka I. (2016a). *Sea-buckthorn oil in vegetable oils stabilization*. Ital J Food Sci., 28: 412-425.
- Czaplicki S., Tańska M., Ogrodowska D. (2016b). *Improving the stability of cold-pressed oils by their enrichment in sea-buckthorn oil*. Pol J Natur Sc., 31(4): 621-635.
- Dąbrowski G., Konopka I.Z. (2016). *Związki biologicznie aktywne obecne w bioolejach roślinnych = Bioactive compounds of plant bio-oils*. Journal of Education, Health and Sport., 6(7): 301-308.
- Fiedor J., Burda K. (2014). *Potential role of carotenoids as antioxidants in human health and disease*. Nutrients., 6: 466-488.
- Franke S., Fröhlich K., Werner K., Böhm V., Schöne F. (2010). *Analysis of carotenoids and vitamin E in selected oilseeds, press cakes and oils*. Eur J Lipid Sci Technol., 112: 1122-1129.

- Górecka A., Wroniak M., Krygier K. (2003). *Wpływ ogrzewania nasion rzepaku na jakość wytłoczonego oleju*. Rośl Oleiste., 24(2): 567-576.
- Gryszczyńska A., Gryszczyńska B., Opala B. (2011). *Karotenoidy. Naturalne źródła, biosynteza, wpływ na organizm ludzki*. Post Fitoter., 2: 127-143.
- Güneşera B. A., Yilmaza E., Oka S. (2017). *Cold pressed versus refined winterized corn oils: quality, composition and aroma*. Grasas Aceites., 68(2).
- Igielska-Kalwat J., Wawrzyńczak A., Nowak I. (2012). *Karotenoidy i ich zastosowanie w przemyśle kosmetycznym na przykładzie β -karotenu*. CHEMIK., 66(2): 140-144.
- Khachik F. (2006). *Distribution and metabolism of dietary carotenoids in humans as a criterion for development of nutritional supplements*. Pure Appl Chem., 78: 1551-1557.
- Konuskan D.B., Arslan M., Oksuz A. (2018). *Physicochemical properties of cold pressed sunflower, peanut, rapeseed, mustard and olive oils grown in the Eastern Mediterranean region*. Saudi J Biol Sci.
- Loskutova E., Nolan J., Howard A., Beatty S. (2013). *Macular pigment and its contribution to vision*. Nutr., 5: 1962-1969.
- Mezzmo N., Ferreira S.R.S. (2016). *Carotenoids functionality, sources, and processing by supercritical technology: a review*. J Chem.
- Michalak M., Paradowska K., Zielińska A. (2018). *Selected plant oils as a source of carotenoids for the applications in cosmetology*. Post Fitoter., 19(1): 10-17.
- Mingez-Mosquera M.I., Hornero-Mendez D., Perez-Galvez A. (2002). *Carotenoids and provitamin A in functional foods [w:] Methods of analysis for functional food and nutraceuticals*. CRC PRESS, Londyn: 277-337.
- Mińkowski K., Grześkiewicz S., Jerzewska M., Ropelewska M. (2010). *Charakterystyka składu chemicznego olejów roślinnych o wysokiej zawartości kwasów linolenowych*. Żywn-Nauk Technol Ja., 6(73): 146-157.
- Miyashita K., Nishikawa S., Beppu F., Tsukui T., Abe M., Hosokawa M. (2011). *The allenic carotenoid fucoxanthin, a novel marine nutraceutical from brown seaweeds*. J Sci Food Agric., 91(1): 1166-1174.
- Muszyńska B., Mastej M., Sułkowska-Ziaja K. (2016). *Biological function of carotenoids and their occurrence in the fruiting bodies of mushrooms*. MIR., 27(107): 113-122.
- Nagao A. (2009). *Absorption and function of dietary carotenoids*. Forum of Nutr., 61:55-63.
- Obiedzińska A., Waszkiewicz-Robak B. (2012). *Oleje tłoczone na zimno jako żywność funkcjonalna*. Żywn-Nauk Technol Ja., 1(80): 27-44.
- Raczyk M., Siger A., Radziejewska-Kubzdela E., Ratusz K., Rudzińska M. (2017). *Roasting pumpkin seeds and changes in the composition and oxidative stability of cold-pressed oils*. Acta Sci Pol Technol Aliment., 16(3): 293-301.
- Rafałowski R., Żegarska Z., Kuncewicz A., Borejszo Z. (2008). *Fatty acids composition, tocopherols and β -carotene content in polish commercial vegetable oils*. Pak J Nutr., 7(2): 278-282.
- Rotkiewicz D., Konopka I., Tańska M. (2002). *Barwniki karotenoidowe i chlorofilowe olejów roślinnych oraz ich funkcje*. Rośl Oleiste., 23(1): 561-579.

- Saber-Tehrani M., Givianrad M.H., Aberoomand-Azar P., Waqif-Husain S., Jafari Mohammadi S.A. (2013). *Chemical composition of Iran's Pistacia atlantica cold pressed oil*. Journal of Chemistry.
- Santos M. F. G., Alves R. E., Roca M. (2015). *Carotenoid composition in oils obtained from palm fruits from the Brazilian Amazon*. Grasas Aceites., 66(3).
- Shinagawa F.B., De Santana F.C., Araujo E., Purgatto E., Mancini-Filho J. (2018). *Chemical composition of cold pressed Brazilian grape seed oil*. Food Sci Technol., Campinas, 38(1): 164-171.
- Simas R.C., Catharino R.R., Cunha I.B.S., Cabral E.C., Barrera-Arellano D., Eberlina M.N., Alberici R.M. (2010). *Instantaneous characterization of vegetable oils via TAG and FFA profiles by easy ambient sonic-spray ionization mass spectrometry*. Analyst., 135: 738-744.
- Sionek B. (1997). *Oleje tłoczone na zimno*. Roczniki PZH, 48(3), 283-294.
- Tańska M., Mikołajczak N., Konopka I. (2018). *Comparison of the effect of sinapic and ferulic acids derivatives (4-vinylsyringol vs. 4-vinylguaiacol) as antioxidants of rapeseed, flaxseed, and extra virgin olive oils*. Food Chem., 240: 679-685.
- Wroniak M., Krygier K. (2006). *Oleje tłoczone na zimno*. Przemysł Spożywczy, 7: 30-34.
- Yurkov A.M., Vustin M.M., Tyaglov B.V., Maksimova I.A., Sineokiy S.P. (2008). *Pigmented basidiomycetous yeasts are a promising source of carotenoids and ubiquinone Q10*. Microbiol., 77: 1-6.

Czynniki wpływające na stabilność oksydacyjną olejów tłoczonych na zimno i możliwość jej poprawy poprzez zastosowanie naturalnych przeciwutleniaczy

Factors affecting the oxidative stability of cold pressed oils and the possibility of its improvement through the use of natural antioxidants

Klaudia Martynow

Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie
Wydział Nauki o Żywności
Studenckie Koło Naukowe Technologów Przetwórstwa Surowców Roślinnych
Opiekun: dr hab. inż. Małgorzata Tańska, prof. UWM

Abstract

The aim of the study was to analyze the literature data on effect of the addition of various natural antioxidants on the oxidative stability of cold-pressed oils. Due to the short shelf-life of cold-pressed oils and a big problem with obtaining their constant and adequate quality, tests are being carried out to assess the quality and attempt to increase the oxidation stability of cold-pressed oils, among others by the addition of various natural antioxidants. Due to the need to improve the health of the society and food safety, scientists have studied natural antioxidants such as extracts and essential oils from herbs and spices. It can be concluded from the literature that oxidative stability of oils is influenced by many factors, i.e. the type of raw material from which cold pressed oil was produced and its quality, the type of antioxidant added and its dose. Most of the existing data confirms that natural antioxidants include essential oils from herbs, oregano and rosemary extracts, protein hydrolysates and tocopherol mixtures effectively stabilize cold pressed oils.

Keywords: cold pressed oil, oxidative stability, natural antioxidants, herbs, soybean meal hydrolysates

Wstęp

W ostatnim czasie nastąpił duży wzrost świadomości żywieniowej konsumentów, co sprawiło, że oleje tłoczone na zimno, stały się znacznie bardziej popularne. Przyczyną tego zjawiska jest przekonanie, że oleje rafinowane mają znacznie niższą wartość odżywczą niż oleje tłoczone na zimno, otrzymywane w sposób ekologiczny i naturalny (Wroniak i Lubian 2008). Społeczeństwo, obawiając się pozostałości chemicznych w produkcie oraz dbając o środowisko naturalne, coraz częściej wybiera oleje, które w procesie produkcyjnym, nie zostały narażone na działanie wysokiej temperatury i związków chemicznych (Wroniak i Krygier 2006). Oleje tłoczone na zimno są pozyskane w wyniku procesów mechanicznych, bez użycia wysokiej temperatury. Mogą one być tylko oczyszczane przez różne procesy, tj.

sedymentację, wyplukiwanie wodą, filtrację bądź wirowanie (Obiedzińska i Waszkiewicz-Robak 2012).

Oleje tłoczone na zimno, zawierają naturalne, bardzo cenne w diecie człowieka składniki, m.in. tokoferole, sterole, karotenoidy, fosfolipidy o właściwościach przeciwutleniających, które na różnych etapach procesu rafinacji są częściowo usuwane z olejów lub niszczone w procesie przemysłowej rafinacji oleju. Ważną zaletą większości olejów tłoczonych na zimno jest również to, że dostarczają do diety człowieka nienasycone kwasy tłuszczowe (Wroniak i Krygier 2006; Tańska i in. 2018). Ze względu na duży udział wielonienasyconych kwasów tłuszczowych, oleje tłoczone na zimno, ulegają niekorzystnym przemianom, prowadzącym do powstawania szkodliwych dla zdrowia człowieka związków, m.in. pierwotnych i wtórnych produktów utlenienia. Procesy te zachodzą zarówno podczas produkcji oleju, jak i w trakcie jego przechowywania, pod wpływem różnych czynników jak: temperatura, tlen oraz światło, dlatego ważne jest odpowiednie zabezpieczenia oleju przed procesami utleniania (Wroniak i Lubian 2008). Tempo przemian oksydacyjnych w oleju zależy od wielu czynników, w tym m.in. obecności w nim związków o aktywności pro- i przeciwutleniającej. Opóźnianie utleniania lipidów, a tym samym przedłużenie trwałości oleju, możliwe jest również przez dodatek przeciwutleniaczy. W praktyce przemysłowej najczęściej są to syntetyczne związki o właściwościach przeciwutleniających, np. trzeciorzędowy butylohydroksychinon (TBHQ), di-tetr-butylhydroksytoluen (BHT), mono-tert-butylhydroksyanizol (BHA), estry kwasu galusowego (Kita i in. 2011). Przeprowadzone badania wykazały jednak ich szkodliwy wpływ na organizm (uszkodzenie nerek, zaburzenia w krzepnięciu krwi, nieprawidłowości w rozwoju). Dlatego stosowanie ich w wielu krajach, w tym również w Polsce, jest ograniczone (Korczyk i in. 1999). Z tego względu, istnieje duże zainteresowanie uzyskaniem i wykorzystaniem przeciwutleniaczy z naturalnych źródeł, ponieważ uważa się je za bezpieczne dla zdrowia człowieka. Źródłem substancji o charakterze przeciwutleniaczy są m.in. zioła oraz przyprawy takie jak: goździki, oregano, cynamon, szalwia czy rozmaryn. Ich właściwości uwarunkowane są obecnością związków polifenolowych i naturalnych garbników, które efektywnie przedłużają trwałość tłuszczu, zapobiegając procesom utleniania. Ponadto, wykazują właściwości przeciwbakteryjne i przeciwprzewodniakowe oraz wpływają na zahamowanie wzrostu komórek nowotworowych (Kozłowska i Żbikowska 2013; Martínez i in. 2013).

Cel pracy

Celem pracy była ocena wpływu dodatku różnych, naturalnych przeciwutleniaczy na stabilność oksydacyjną olejów tłoczonych na zimno na podstawie danych literaturowych. Ponadto, w pracy zwrócono uwagę również na złożoność procesu utleniania olejów tłoczonych na zimno.

Właściwości olejów tłoczonych na zimno

Tłoczenie na zimno nie wymaga użycia rozpuszczalnika organicznego ani ciepła. Oleje otrzymywane są w wyniku tłoczenia nasion za pomocą prasy hydraulicznej lub prasy ślimakowej, dzięki czemu możliwe jest zachowanie w olejach pożądaných związków biologicznie aktywnych, takich jak fenole, flawonoidy, karotenoidy i tokoferole oraz niezbędne nienasycone kwasy tłuszczowe. Inną zaletą olejów tłoczonych na zimno jest zawartość antyoksydantów oraz wielonienasyconych kwasów tłuszczowych z grupy n-3 i n-6 lub steroli a to sprawia, że można je zaliczyć do żywności funkcjonalnej. Oleje tłoczone na zimno nie zawierają izomerów *trans* kwasów tłuszczowych, co ma duże znaczenie dla zdrowia człowieka, natomiast w czasie produkcji oleju z wykorzystaniem wysokiej temperatury (oleje rafinowane), prawdopodobne jest otrzymanie oleju o zawartości izomerów *trans* w ilościach ok. 1% (Obiedzińska i Waszkiewicz-Robak 2012; Teh i Birch 2013).

Głównym czynnikiem wpływającym na barwę, smak oraz profil kwasów tłuszczowych w oleju, jest rodzaj surowca użytego do produkcji oleju tłoczonego na zimno. Z kolei rodzaj i zawartość poszczególnych kwasów tłuszczowych w oleju, decyduje o jego trwałości. Zwłaszcza duża zawartość kwasu linolenowego powoduje wzrost podatności oleju na utlenianie. W wyniku tego procesu, następuje degradacja cennych nienasyconych kwasów tłuszczowych oraz innych związków bioaktywnych. Oleje różnią się znacząco składem chemicznym, zwłaszcza profilem kwasów tłuszczowych np.: olej lniany zawiera dużo kwasu linolowego (n-6) oraz -linolenowego (n-3) czyli kwasów wielonienasyconych, natomiast w oleju rzepakowym występuje w przewadze kwas oleinowy (n-9), zaliczany do grupy kwasów jednonienasyconych (Tańska i in. 2011, Obiedzińska i Waszkiewicz-Robak 2012, Mikołajczak i in. 2019).

Stabilność oksydacyjna olejów tłoczonych na zimno

Stabilność oksydacyjna określa odporność olejów na procesy oksydacyjne podczas ich przetwarzania i przechowywania. Jest to ważny wskaźnik, określający zarówno jakość oleju, jak i również jego okres przydatności do spożycia. W wyniku utleniania oleju, powstają

związki, powodujące negatywne zmiany fizykochemiczne oleju, które są nieakceptowalne lub niedopuszczalne przez konsumentów, jest to np. nieprzyjemny smak i zapach. Stabilność oksydacyjną olejów determinuje przede wszystkim skład kwasów tłuszczowych, a zwłaszcza zawartość wielonienasyconych kwasów tłuszczowych, które przyspieszają proces utleniania, przez co oleje te wymagają odpowiedniej ochrony przed światła, dostępem tlenu, wody oraz wysokiej temperatury. Oleje tłoczone na zimno zawierają wiele związków o właściwościach proutleniających oraz przeciwutleniających, których wpływ na proces utleniania nie został jeszcze dokładnie zbadany, ze względu na wielokierunkowy mechanizm reakcji wolnych rodników (Siger i in. 2005; Choe i Min 2006; Prescha i in. 2014; Tańska i in. 2011).

Wpływ różnych czynników na stabilność oksydacyjną olejów tłoczonych na zimno

Na stabilność oksydacyjną olejów znacznie wpływa proces produkcji oraz przygotowanie surowca do tłoczenia. Szczególnie znaczenie ma proces czyszczenia, suszenia oraz przechowywania surowca. Ważnym etapem produkcji oleju jest czyszczenie masy nasiennej i wydzielanie zanieczyszczeń użytecznych i nieużytecznych, co pozwala na zachowanie odpowiedniej jakości surowca, a co za tym idzie oleju. W czasie produkcji oraz transportu, nasiona narażone są na uszkodzenia, przez co są wystawione na działanie różnych czynników zewnętrznych jak tlen atmosferyczny oraz mikroorganizmy. Czynniki te prowadzą do obniżenia jakości oleju: zwiększenia liczby nadtlenkowej, anizydynowej, kwasowej, związków fosforu i siarki, barwników chlorofilowych oraz ubytek tokoferoli. Kolejnym etapem jest suszenie, które również może negatywnie wpłynąć na jakość oleju, szczególnie, jeżeli narazimy surowiec na działanie zbyt wysokiej temperatury. Prowadzić może to do przemian barwników chlorofilowych, które są prooksydantami, np. rozpad do feofityn szczególnie sprzyja obniżeniu stabilności oksydacyjnej oleju. Stosowanie zbyt wysokiej temperatury może również doprowadzić do rozkładu karotenoidów, które tracą swoje właściwości przeciwutleniające, co również prowadzi do obniżenia jakości oleju tłoczonych na zimno (Tańska i Rotkiewicz 2003).

W przypadku olejów tłoczonych na zimno, ważne jest ich odpowiednie przechowywanie (odpowiednia temperatura oraz miejsce), ponieważ przemiany oksydacyjne zachodzą również na tym etapie i mają duży wpływ na jakość produktu. W celu zachowania odpowiedniej jakości olejów tłoczonych na zimno, należy stosować się do wszelkich zaleceń producenta, tj. przechowywać oleje bez dostępu światła oraz tlenu, w odpowiednich opakowaniach oraz we właściwej temperaturze. Do przechowywania olejów tłoczonych

na zimno, najodpowiedniejsze są butelki z ciemnego szkła, w przypadku stosowania butelek typu PET (z politereftalanu etylenu), należy zastosować niższe temperatury przechowywania niż jak w przypadku butelek szklanych. Butelki typu PET, ze względu na swoją cenę w porównaniu do butelek szklanych, są częściej stosowane przez producentów, choć charakteryzują się mniejszą barierowością dla tlenu, który powoduje przyspieszenie reakcji utleniania oleju (Wroniak i Cenkier 2015).

Ze względu na sposób produkcji, oleje tłoczone na zimno w swoim składzie zawierają wiele związków. W olejach tych możemy znaleźć tokoferole, które nie tylko pełnią funkcję witaminowe, ale również są bardzo skutecznymi przeciwutleniaczami, hamującymi proces utleniania wielonienasyconych kwasów tłuszczowych w żywności oraz w organizmie człowieka. Następnym ważnym związkiem jest skwalen, który podobnie jak tokoferole występuje w niezmydlającej frakcji olejów. Dzięki strukturze, związek ten wykazuje aktywność przeciwrodnikową, jednakże nie tak skuteczną, jak pozostałe związki frakcji niezmydlającej (Pytkowska i Arct 2008; Wroniak 2012).

W składzie olejów tłoczonych na zimno, możemy znaleźć barwniki chlorofilowe oraz karotenoidowe, które w procesie produkcji, przedostają się z nasiona do oleju. W przypadku olejów rafinowanych, są one usuwane na różnych etapach produkcji, głównie na etapie bielenia, natomiast sposób pozyskania olejów tłoczonych na zimno, w zależności od jakości i dojrzałości surowca, pozwala barwnikom na przedostanie się w znacznej ilości do oleju. Barwniki chlorofilowe są głównym sensybilizatorem w reakcji fotochemicznej, co umożliwia przemianę tlenu tripletowego do postaci singletowej, który wchodzi w reakcję z nienasyconymi kwasami tłuszczowymi. Barwniki karotenoidowe są pożądane, ponieważ pełnią głównie funkcję antyoksydantów i są najbardziej skuteczne w hamowaniu procesu utleniania fotosensybilizowanego, chociaż przy dużej zawartości i braku światła, mogą wykazywać właściwości prooksydacyjne (Rotkiewicz i in. 2002).

Charakterystyka wybranych naturalnych przeciwutleniaczy stabilizujących oleje tłoczone na zimno

Oleje roślinne, zwłaszcza produkowane metodą tłoczenia na zimno, o dużej zawartości nienasyconych kwasów tłuszczowych, są nietrwałe oraz szybko ulegają niekorzystnym przemianom, zwłaszcza podczas procesu przetwarzania oraz przechowywania. Głównymi czynnikami, które wywołują niekorzystne przemiany oksydacyjne, są reaktywne formy tlenu (RFT), światło, wysoka temperatura, promieniowanie jonizujące. W wyniku tych reakcji

powstają pierwotne oraz wtórne produkty utleniania, szkodliwe dla zdrowia konsumenta. Aby zachować najwyższą jakość olejów, należy je odpowiednio stabilizować najczęściej przez stosowanie syntetycznych przeciwutleniaczy. Jednakże badania wykazały ich szkodliwy wpływ na organizm. Obecnie wzrosło zainteresowanie przeciwutleniaczami naturalnymi, do których zaliczamy np. polifenole pozyskiwane z surowców roślinnych, m.in. kwiatów, korzeni, liści, kory, owoców, nasion. Badania prowadzone w ostatnich latach, wskazują na możliwość stosowania jako przeciwutleniaczy do żywności, również związków izolowanych z roślin leczniczych, przypraw i ziół (Jarosławska i in. 2003; Kozłowska i Żbikowska 2013).

Oregano to grupa aromatycznych ziół rodziny Labiatae, różnych gatunków bogatych w związki fenolowe (kwasy fenolowe, np. rozmarynowy, kawowy, flawonoidy), tokoferole oraz olejki eteryczne (karwakrol i tymol). W badaniach wykazano dobre właściwości przeciwutleniające oregano zarówno pod postacią ziół, jak i ekstraktów. Ekstrakty z oregano można stosować np. do stabilizacji oleju słonecznikowego, emulsji typu o/w oraz smalcu (Wroniak i Lubian 2008).

Ziele tymianku pospolitego zawiera wiele substancji czynnych takich jak: olejek eteryczny, garbniki, flawonoidy, kwasy organiczne, substancje gorzkie, triterpeny, które powodują, że ziele to ma wiele pożądanych właściwości jak: antyseptyczne, przeciwdrobnoustrojowe, rozkurczające, poprawiające trawienie oraz antyoksydacyjnie (Stec i in. 2012).

Hydrolizaty białkowe przedłużają trwałość olejów prawdopodobnie dzięki zawartości aminokwasów, peptydów, produktów reakcji Maillarda oraz składników fenolowych, które przetrwały okres hydrolizy kwasowej. Dodatek hydrolizatu białkowego można stosować np. do takich produktów spożywczych, które zawierają olej rzepakowy. Cechy smakowo-zapachowe hydrolizatu są w takich produktach pożądane (produkty ziemniaczane smażone typu chipsy, gotowe do spożycia potrawy mięsne, rybne oraz warzywne mrożone i chłodzone) (Korczak i in. 1999).

Stabilność oksydacyjna olejów tłoczonych na zimno wzbogaconych o naturalne przeciwutleniacze

Korczak i in. (1999) przeprowadzili badania, w których analizowany był wpływ dodatku naturalnych przeciwutleniaczy, zawartych w ekstraktach rozmarynu, hydrolizacie białkowym i mieszaninie tokoferoli, na stabilność oleju rzepakowego, którego trwałość określano za pomocą testów przyspieszonych (Test Rancimat, Test Oxidograf, Test Schaala). W aparacie

Oxidograf, mierzono pochłanianie tlenu przez ogrzewaną próbkę oleju. W Rancimacie określano ilość lotnych produktów utleniania o charakterze związków karboksylowych. Natomiast w teście Schaala, badane próbki oleju były przechowywane w znacznie niższej temperaturze 60°C w porównaniu z temperaturą zastosowaną w teście Rancimat oraz Oxidograf (110°C). Na podstawie wyników stwierdzono, że tokoferole w próbce utlenianej w Rancimacie, nie wykazały aktywności przeciwutleniającej. Pozostałe próbki oleju wzbogacone o przeciwutleniacze, badane w teście Rancimat, również charakteryzowały się najniższą aktywnością, w tym także stosowany dla porównania przeciwutleniacz syntetyczny BHT. Hydrolizat sojowy i przeciwutleniacze wyekstrahowane z rozmarynu heksanem, posiadały aktywność przewyższającą BHT we wszystkich badanych układach. Przeprowadzone badania potwierdzają również, że o aktywności przeciwutleniaczy, decyduje również rodzaj rozpuszczalnika (heksan, etanol). Ekstrakt etanolowy rozmarynu posiadał pewną aktywność przeciwutleniającą, ale nie odznaczał się taką skutecznością jak heksanowy ekstrakt rozmarynu. Proces oczyszczania ekstraktu etanolowego prawie całkowicie usunął z niego kwas karnozowy, związek uznany za główny składnik przeciwutleniający rozmarynu. Pomimo tego, ekstrakt ten zawierał nieznaną bliżej składniki, które wykazywały właściwości przeciwutleniające w badanym oleju.

Tabela 1 Wpływ dodatku wybranych przeciwutleniaczy na stabilność oksydacyjną oleju rzepakowego tłoczonego na zimno (współczynnik ochrony obliczono na podstawie wzoru: $(W_O) = (OI_A - OI_K) / OI_K$ gdzie: OI_A — okres indukcyjny próby z dodatkiem przeciwutleniacza, OI_K — okres indukcyjny próby kontrolnej)

Przeciwutleniacz	Współczynnik ochrony		
	Test Rancimat (110°C)	Test Oxidograf (110°C)	Test Schaala (60°C)
Tokoferole	0,01± 0,01	0,18± 0,05	0,15± 0,20
Hydrolizat sojowy	0,30± 0,07	1,38± 0,10	1,35± 0,01
Ekstrakt heksanowy rozmarynu	0,23±0,03	0,85± 0,06	1,69± 0,10
Ekstrakt etanolowy rozmarynu	0,21± 0,03	0,13± 0,10	0,61± 0,01
BHT	0,09 ± 0,06	0,44± 0,06	0,40± 0,01

Zródło: Opracowanie własne na podstawie Korczak i in. (1999).

Badania przeprowadzone przez Zaborowską i in. (2011), w których analizowano wpływ dodatku ekstraktów tymianku i rozmarynu na stabilność oksydacyjną oleju słonecznikowego, przechowywanego w temperaturze 4, 18 i 38°C przez okres 29 dni, bez dostępu światła. Wykazały, że ekstrakty tymianku i rozmarynu skutecznie obniżały zmiany oksydacyjne zachodzące w trakcie przechowywania próbek oleju słonecznikowego. Wpływ ten był

szczególnie widoczny w podwyższonych warunkach temperaturowych. Ekstrakt rozmarynu w porównaniu do ekstraktu tymianku, skuteczniej hamował zmiany oksydacyjne oleju słonecznikowego, pomimo niższej zawartości sumy związków fenolowych.

Wnioski

Stabilność oksydacyjna olejów tłoczonych na zimno jest niska i zależy od wielu czynników, m.in. rodzaju i jakości surowca, rodzaju opakowania i warunków przechowywania.

Naturalne przeciwutleniacze są lepiej akceptowane przez konsumentów niż syntetyczne, a ich skuteczność, jako antyoksydantów, jest porównywalna, a nawet wyższa niż przeciwutleniaczy syntetycznych.

Na aktywność naturalnych przeciwutleniaczy ma wpływ rodzaj surowca, z którego są ekstrahowane oraz rodzaj rozpuszczalnika użytego do ich ekstrakcji.

Ekstrakty z rozmarynu i tymianku oraz hydrolizaty sojowe są skutecznymi naturalnymi przeciwutleniaczami, które można dodać do olejów tłoczonych na zimno w celu przedłużenia jego trwałości.

Literatura

- Choe E., Min D.B. 2006. *Mechanisms and factors for edible oil oxidation*. Compr. Rev. Food Sci. Food Safety, 5(4): 169-186.
- Jarosławska A., Sokół-Łętowska A.N.N.A., Oszmiański J. 2003. *Próba zastosowania naturalnych polifenoli do stabilizacji oleju słonecznikowego*. Żywn. Nauka. Technol. Jak., 2(35): 77-86.
- Korczak J., Janitz W., Heś M., Nogala-Kalucka M., Gogolewski M. 1999. *Stabilizacja oleju rzepakowego przy wykorzystaniu naturalnych przeciwutleniaczy*. Rośliny Oleiste-OilseedCrops, 20(2): 569-579.
- Kozłowska M., Żbikowska A. 2013. *Wpływ dodatku ekstraktów z przypraw na jakość i trwałość krakersów*. Żywność Nauka Technologia Jakość, 6(91): 79-90.
- Kita A., Tajner-Czopek A., Peksa A., Rytel E., Lisinska, G., 2011. *Wpływ dodatku przeciwutleniaczy do oleju smażalniczego na zawartość akrylamidu w smażonych produktach ziemniaczanych*. Żywność Nauka Technologia Jakość, 5(78): 37 – 46.
- Martínez M.L., Penci M.C., Ixtaina V., Ribotta P.D., Maestri D. 2013. *Effect of natural and synthetic antioxidants on the oxidative stability of walnut oil under different storage conditions*. LWT Food. Sci. Technol., 51(1): 44-50.
- Mikołajczak N., Tańska M., Konopka I. 2019. *Impact of the addition of 4-vinyl-derivatives of ferulic and sinapic acids on retention of fatty acids and terpenoids in cold-pressed rapeseed and flaxseed oils during the induction period of oxidation*. Food Chem., 278: 119-126.
- Obiedzińska A., Waszkiewicz-Robak B. 2012. *Oleje tłoczone na zimno jako żywność funkcjonalna*. Żywn. Nauka. Technol. Jak., 19(1): 27-44.

- Prescha A., Grajzer M., Dedyk M., Grajeta H. 2014. *The antioxidant activity and oxidative stability of cold-pressed oils*. J. Amer. Oil Chem. Soc., 91(8): 1291-1301.
- Pytkowska K., Arct J. 2008. *Naturalne składniki anti-age z frakcji niezmydlalnych olejów roślinnych*. SÖFW-Journal, 1(2): 24-37.
- Rotkiewicz D., Konopka I., Tańska M. 2002. *Barwniki karotenoidowe i chlorofilowe olejów roślinnych oraz ich funkcje*. Rośliny Oleiste, 23(2): 561-579.
- Siger A., Nogala-Kałużka M., Lampart-Szczapa E., Hoffman A. 2005. *Antioxidant activity of phenolic compounds of selected cold-pressed and refined plant oils*. Rośliny Oleiste, 26(2): 549-559.
- Stec M., Kurzeja E., Mazurek I., Pawłowska-Goral K. 2012. *Zmiany wartości odżywczej oleju z pestek winogron pod wpływem świeżego ziela tymianku*. Bromat. Chem. Toksykol., 45,3: 1148–1152.
- Tańska M., Mikołajczak N., Konopka I. 2018. *Comparison of the effect of sinapic and ferulic acids derivatives (4-vinylsyringol vs. 4-vinylguaiacol) as antioxidants of rapeseed, flaxseed, and extra virgin olive oils*. Food Chem., 240: 679-685.
- Tańska M., Rotkiewicz D. 2003. *Wpływ różnych czynników na jakość nasion rzepaku*. Rośliny Oleiste, 24(2): 595-616.
- Tańska M., Rotkiewicz D., Ambrosewicz M. 2011. *Porównanie trwałości tłoczonych na zimno olejów lnianego i rzepakowego*. Bromat. Chem. Toksykol., 44(3): 521-27.
- Teh S.S., Birch J. 2013. *Physicochemical and quality characteristics of cold-pressed hemp, flax and canola seed oils*. J. Food Comp. Anal., 30(1): 26-31.
- Wroniak M. 2012. *Wartość żywieniowa olejów rzepakowych tłoczonych na zimno*. Żywn. Nauka. Technol. Jak., 6, 85: 79-92.
- Wroniak M., Cenker J. 2015. *Porównanie cech sensorycznych, fizyko-chemicznych i stabilności oksydacyjnej wybranych olejów tłoczonych na zimno*. Zesz. Probl. Post. Nauk Rol., 581: 123-133.
- Wroniak M., Lubian, M. 2008. *Ocena stabilności oksydacyjnej olejów rzepakowego i słonecznikowego tłoczonych na zimno z dodatkiem ekstraktu z oregano w teście Rancimat i termostatowym*. Żywn. Nauka. Technol. Jak., 15(4): 80-89.
- Wroniak M., Krygier K. 2006. *Oleje tłoczone na zimno*. Przem. Spoż., 60(7): 30-32.
- Zaborowska Z., Przygonski K., Dziarska B., Wojtowicz E., Kupka A. 2011. *Wpływ ekstraktów tymianku i rozmarynu na stabilność oksydacyjną oleju słonecznikowego*. Bromat. Chem. Toksykol., 44(3): 877-882.

**Antybakteryjne właściwości roślinnych olejków eterycznych
wobec *Listeria* species izolowanych z żywności**
Antimicrobial properties of plant essential oils against *Listeria*
species isolated from foodstuff

Arkadiusz Józef Zakrzewski
Urszula Zarzecka

Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie
Wydział Nauki o Żywności
Studenckie Koło Naukowe Mikrobiologii Żywności
Opiekun: dr inż. Wioleta Chajęcka-Wierzchowska

Abstract

Increasing consumer awareness of food additives forces food producers to look for an alternative, natural sources of substances with antibacterial properties that extend shelf life and possessing antibacterial properties. Essential oils, volatile components of aromatic plants, in addition to fragrance functions, are a natural defense mechanism of plants against bacteria, fungi, parasites. Essential oils are potentially very important for pathogens with high resistance to processing and biofilm formation. Species belonging to the genus *Listeria* are pathogens, causing listeriosis, a rare disease, but with high mortality. The study aimed to assess the activity of essential oils: clove (*Syzygium aromaticum*) and thyme (*Thymus vulgaris*) against *Listeria* sp. Isolated from food. Antimicrobial activity was determined by measuring the minimum inhibitory concentration (MIC) using the dilution method. Based on this analysis, the oils were effective against all strains tested, in which the minimum inhibitory concentration varied depending on the test strain. The results of this study indicate the significant potential of clove and thyme essential oils in improving product durability.

Keywords: *Listeria* species, plant essential oils, clove, thyme

Introduction

Contaminated food is one of major struggle causing morbidity and mortality worldwide. According to WHO, 600 million foodborne illnesses were reported in 2010 cause by 31 know food hazards that includes bacteria, viruses, protozoon, helminths and chemicals (WHO 2015). However, usually identified with the problem of food-borne diseases are bacteria, which include *Listeria* species, a Gram-positive, facultative intracellular bacterium (Vazquez-Boland et al. 2001). *Listeria monocytogenes* is the main causative agent of serious epidemic and sporadic listeriosis but a few cases of human listeriosis have been attributed to *L. seeligeri* and *L. welshimeri* (Low and Donachie 1997, Hain et al. 2006). Human listeriosis generally has a low incidence, with 0.1 to 10 cases per 1 million people per year depending on the countries and regions of the world, but the case-fatality rate is usually as high as 20–30%

(Hoffman et al. 2012). Listeriosis has various clinical manifestations depending on the number of bacteria ingested, the host, and the strain causing infection and can be divided into two main categories: non-invasive and invasive.

Invasive listeriosis occurs in humans who have decreased levels of cell-mediated immunity. This group includes the elderly, neonates, pregnant women, people undergoing immunosuppressive therapy, or adults with underlying diseases. In non-pregnant individuals the infection usually manifests in the central nervous system resulting in meningoencephalitis, or in the blood causing septicemia. In pregnant women symptoms of the infection are often mild, but localization of the pathogen to the placenta may cause miscarriage, stillbirth, or perinatal sepsis or meningitis in the newborn baby (Health Canada 2011). In contrast, non-invasive listeriosis usually occurs in people with normal immunity, presenting self-limiting gastroenteritis with a feverish course, similar to other diseases acquired in food (Allerberger and Wagner 2009).

In the human population, listeriosis is mainly spread through food contaminated by *Listeria* species, which includes: milk and milk products from sick animals, raw meat and vegetables, seafood, frozen foods, sometimes vacuum-packed meats or ready-to-eat food (Jensen 1996).

Listeria species is ubiquitous in the environment and can be found in soil, water or manure. Its prevalence in food and food processing plants results from its resistance to environmental stress, ability to reproduce at low temperatures and the ability to form biofilms on the surfaces of various places in processing plants (Liu et al. 2005).

Due to the growing international awareness of food-borne diseases as a significant health risk and the awareness of the defectiveness of traditional methods of combating microorganisms, alternatives are being sought that can meet the expectations of consumers looking for natural food additives.

One such possibility is the use of essential oils as antibacterial additives. Essential oils (EOs) are aromatic oily liquids obtained from different plant material including flowers, buds, seeds, leaves, twigs, bark, herbs, wood, fruits and roots. Naturally, essential oils have defense functions in plants. It has antibacterial, antifungal, antiviral and parasitic properties (Burt 2004). Although plants with essential oils have been used for centuries for perfume, flavor and preservative properties, the first research on antibacterial properties falls on the 40's and 50's of the 20th century. Research on the use of EOs in food began in the early 90s where the trend of green consumerism was developing (Boyle 1955; Burt 2004; Guenther 1948).

Essential oils have been identified as highly concentrated, complex mixtures comprising of a wide range of volatile and nonvolatile fractions. About 90–95% of the whole EO is made up of the volatile fraction and this consists of monoterpenes and sesquiterpene hydrocarbons and their oxygenated derivatives, along with aliphatic aldehydes, alcohols, and esters (Jalali-Heravi et al. 2010, Tongnuanchan and Benjakul, 2014). In every essential oil, these compounds appear in unique ratios. Generally, between 1 - 3 major compounds represent a large ratio of the oil composition (20 - 70%), while other compounds represent a small ratio of the oil composition (Yap et al. 2014).

Table 1. Major components of selected EOs

Common name of EO	Latin name of plant source	Major components	Approximate % composition
Cilantro	Coriandrum sativum	Linalool	26%
Coriander	Coriandrum sativum (seeds)	Linalool	70%
Cinnamon	Cinnamomum zeylandicum	Trans-cinnamaldehyde	65%
Oregano	Origanum vulgare	Carvacrol	80%
Clove (bud)	Syzygium aromaticum	Eugenol	75 – 85%
Thyme	Thymus vulgaris	Thymol	10 – 64%
		Carvacrol	2 – 11%
		g-Terpinene	2 – 31%
		p-Cymene	10 – 56%

Source: Burt 2004.

In vitro evidence demonstrating the antimicrobial properties of essential oils against a broad spectrum of food-related pathogens. The antimicrobial activity of essential oils is complex and not fully understood. The challenge is to explain specific mechanisms of action due to the unique nature of essential oils and their chemical composition. However, a number of observations have been made in this current research area. An important feature of EOs is hydrophobicity, which enables them to partition in the lipids of the bacterial cell membrane and mitochondria, disturbing the structures and rendering them more permeable, which can lead to leakage of ions and other cell contents. Although a certain amount of leakage from bacterial cells may be tolerated without loss of viability, extensive loss of cell contents or the exit of critical molecules and ions will lead to (Burt 2004).

Studies of antibacterial activity of EOs show a greater effectiveness against Gram positive bacteria. Gram-negative organisms are expected to be less susceptible to antimicrobial agents because they have an outer membrane surrounding the cell wall, which limits the diffusion of hydrophobic compounds by coating lipopolysaccharides (Ratledge and Wilkinson 1988; Vaara 1992).

The objective of the present work was to evaluate antibacterial efficacy of thyme (*Thymus vulgaris*) and clove (*Syzygium aromaticum*) essential oils on different *Listeria* species isolated from foodstuff.

Materials and methods

To assess the antibacterial properties of the test samples, ten strains of *Listeria* strains were used in the study: The bacterial strains from American Type Culture Collection (ATCC) standard strains *Listeria monocytogenes* ATCC BAA 751, *Listeria innocua* ATCC 33090, as well as 4 *Listeria monocytogenes*, 3 *Listeria innocua* and *Listeria welshimeri* were selected from collection of the Chair of Industrial and Food Microbiology, University of Warmia and Mazury in Olsztyn, Poland.

Two different commercial essential oils: thyme (*Thymus vulgaris*) (Etja, Poland) and clove (*Syzygium aromaticum*) (Etja, Poland) were purchased in Olsztyn.

Susceptibility tests for determining the MIC of EOs were carried out following the broth dilution assay in 5 ml tubes. Each EOs was diluted alone in Brain Heart Infusion broth with additive of 0.5% Tween 20 (Sigma-Aldrich, Germany) as emulsifier and equivalent concentrations of 0.25, 0.125, 0.0625, 0.03125, 0.015625% v/v were established. The strains were grown at 37°C for 24 hours in brain heart infusion broth (BHI) and standard suspensions were performed in sterile saline (0.85%) to obtain 0.5 McFarland scale. 200 µl of each strain inoculum was added to tubes and incubated for 24h at 37°C. The positive control was a bacterial suspension in BHI with Tween 20, while the negative control was a medium without bacteria. Before and after incubation, the bacterial and the oil suspension (100 µl) was transferred to a 96 well plate. Due to the high turbidity of the oil suspension, it was diluted in sterile saline (50% v/v) and the absorbance (600 nm wavelength) was measured in Varioskan Lux (Thermo Fisher Scientific, US). For MIC (Minimal Inhibitors Concentration) the concentration of the tested oil was taken, at which the result of absorbance in a given well did not exceed the absorbance value of the medium. The supplementation of this method was the visualization of the bacterial growth inhibition result by carrying out the rezazurin reduction reaction. A freshly prepared 1% (w/v) dilution of rezazurin was added to each well and incubated for 30 minutes at 37°C.

Results

The MIC results are shown in Table 2 and Table 3. Both thyme and clove EOs demonstrated strong activities against *Listeria* species with MICs of 0.0625-0.25 and 0.03125-

0.125% respectively. The two most frequent MICs for both thyme and cinnamon EOs were 0.125%.

Table 2. The growth of bacteria with the addition of concentrations of thyme essential oil

Strain	Concentration of thyme oil				
	0.25	0.125	0.0625	0.03125	0.015625
<i>L.monocytogenes</i> ATTCBAA 751	-	-	-	+	+
<i>L. innocua</i> ATTC 33090	-	-	+	+	+
<i>L. monocytogenes</i> I	-	-	+	+	+
<i>L. monocytogenes</i> II	-	-	+	+	+
<i>L. monocytogenes</i> III	-	-	+	+	+
<i>L. monocytogenes</i> IV	-	-	+	+	+
<i>L. innocua</i> I	-	-	+	+	+
<i>L. innocua</i> II	-	-	+	+	+
<i>L. innocua</i> III	-	-	-	+	+
<i>L. welshimeri</i>	-	-	+	+	+

Note: “+” growth of tested strains,“-” no bacterial growth

Source: Own research.

In the presented work, a redox indicator - resazurin was used as a measure of the presence of live microorganisms present in the samples treated with oils and the results are shown in Figure 1.

Table 3. The growth of bacteria with the addition of concentrations of clove essential oil

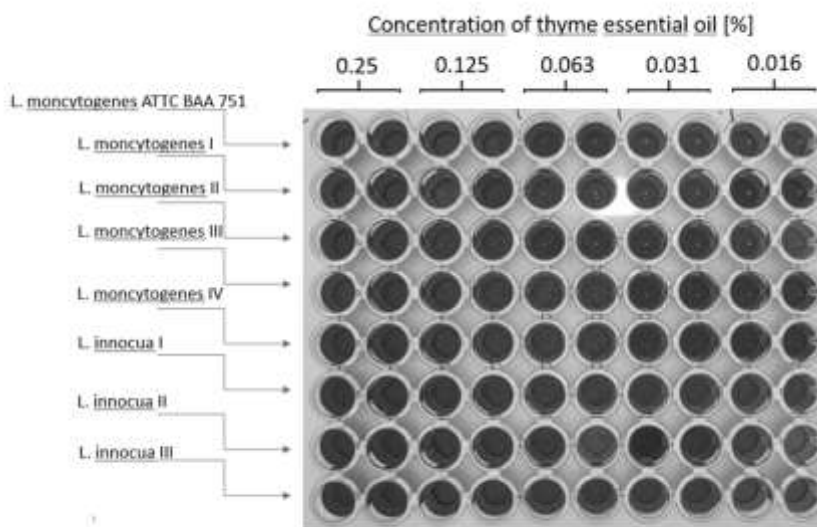
Strain	Concentration of clove oil				
	0.25	0.125	0.0625	0.03125	0.015625
<i>L.monocytogenes</i> ATTC BAA 751	-	-	+	+	+
<i>L. innocua</i> ATTC 33090	-	-	+	+	+
<i>L. monocytogenes</i> I	-	-	-	+	+
<i>L. monocytogenes</i> II	-	-	+	+	+
<i>L. monocytogenes</i> III	-	-	+	+	+
<i>L. monocytogenes</i> IV	-	-	+	+	+
<i>L. innocua</i> I	-	-	-	+	+
<i>L. innocua</i> II	-	-	-	+	+
<i>L. innocua</i> III	-	-	+	+	+
<i>L. welshimeri</i>	-	-	+	+	+

Note: “+” growth of tested strains,“-” no bacterial growth

Source: Own research.

Due to the very high efficiency of essential oils against food pathogens in high concentrations, their use in the food industry is limited. Essential oils in concentrations above 1% can have a strong effect on organoleptic characteristics or texture. Therefore, in order to use natural preservatives, effective against pathogens and able to extend shelf-life, it is necessary to distinguish essential oils that work in the smallest concentrations (Devlieghere 2004).

Figure 1 Example of resazurin assay applied in research (source: own elaboration)



In this work selected EOs, thyme and clove were tested against various *Listeria* species, including *L. monocytogenes*, *L. innocua* and *L. welshimeri*. Studies of the antibacterial properties of essential oils carried out on major food pathogens are primarily focused on *Listeria monocytogenes*. Researches were carried out by Firouzi i in. 1998, Smith-Palmer i in., 1998 and Cosentino i in. 1999. Researchers obtained results for MICs range 0,125-0,4 and 0,2 for thyme and clove essential oils respectively. Less frequently appear in studies conducted in other *Listeria* species. In research of Tarek (2014) nine EOs including clove oil were investigated against various pathogens involving *Listeria innocua* but the MIC value is generally defined as <1%. In the study of EOs-inhibiting properties in juices, a Spanish team conducted the results and show that the weak inhibitory properties are shown in clove oil at a concentration of 0.1% (Raybaudi-Massilia 2006). A study on the entire spectrum of the most common *Listeria* species was conducted by Al-Hajj (2017), but he studied only one type of essential oil from the *Pulicaria inuloides* plant, which did not show high efficiency against pathogens. Currently on the market there are several food preservatives based on essential oils and we can find more and more research to extend the shelf life of food (Burt 2004). In studies de Carvalho (2015), Pasavento (2015) and de Sá Silva (2019) it was possible to reduce the number of *L. monocytogenes* in the products typical for this pathogen, such as meat and dairy products but with a negative effect on the organoleptic characteristics.

The application of essential oils in foods alongside bactericidal properties may also affect its functionality. Thyme oil works cholagogue and strengthening the nervous system.

Bitter compounds stimulate the secretion of gastric juice improving digestion and assimilation of foods, eliminate the contractions occurring in the gastrointestinal tract (Lawless 2002). Thyme oil should be reserved for topical use. When taken internally, it may lead to dizziness, vomiting, and breathing difficulties (Newall et al. 1996)

Conclusion

Essential oils, both thyme and clove, are effective against pathogens belonging to the *Listeria* genus. Demonstrating the bacterial properties, they can potentially be used as preservatives.

References

- Ambroziak Z., 1999, *Produkcja piekarsko-ciastkarska cz.2. Podręcznik dla technikum*, WSiP, Warszawa.
- Antoniewski P., 2018, *Krótką historią pączków*, <https://kurierhistoryczny.pl/arttykul/krotka-historia-paczkow,254> (dostęp 6 luty 2019 r.).
- Kosewski G., Bolesławska I. i Przysławski J. 2016. *Profil kwasów tłuszczowych, w tym izomerów trans w wybranych wyborach cukierniczych, waflach i ciastkach*, *Bromat. Chem. Toksykol.*, XLIX, 016, 3: 313.
- Al-Hajj M. 2017. *Anticancer, Antimicrobial and Antioxidant Activities of the Essential Oils of Some Aromatic Medicinal Plants (Pulicariainuloides-Asteraceae)*. *J FOOD NUTR RES.* 5: 490-495.
- Allerberger, F., Wagner M. 2009. *Listeriosis: a resurgent foodborne infection*. *Clin. Microbiol. Infect.* 16: 16–23.
- Boyle W. 1955. *Spices and essential oils as preservatives*. *The American Perfumer and Essential Oil Review* 66: 25 – 28.
- Burt S. 2004. *Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review*. *Int. J. Food Microbiol*, 94(3): 223–253.
- Cosentino S., Tuberoso C., Pisano B., Satta M., Mascia V., Arzedi E., Palmas F. 1999. *In vitro antimicrobial activity and chemical composition of Sardinian Thymus essential oils*. *Letters Appl Microbiology* 29: 130 – 135.
- de Carvalho R., de Souza G., Honório V., de Sousa J., da Conceição M., Maganani M., de Souza E. 2015. *Comparative inhibitory effects of Thymus vulgaris L. essential oil against Staphylococcus aureus, Listeria monocytogenes and mesophilic starter co-culture in cheese-mimicking models* *Food Microbiol*, 52: 59-65.
- Devlieghere F., Vermeulen A., Debevere, J. 2004. *Chitosan: antimicrobial activity, interactions with food components and applicability as a coating on fruit and vegetables*. *Food Microbiology* 21: 703–714.
- Directorate, Health Products and Food Branch. <https://www.canada.ca/en/health-canada/services/food-nutrition/legislation-guidelines/policies/policy-listeria-monocytogenes-ready-eat-foods-2011.html>.

- Firouzi R., Azadbakht M., Nabinedjad A. 1998. *Anti-listerial activity of essential oils of some plants*. J APPL ANIM RES. 14: 75 – 80.
- Guenther E. 1948. *The Essential Oils*. D. Van Nostrand, New York.
- Hain T., Steinweg C., Chakraborty T. 2006. *Comparative and functional genomics of Listeria spp.* J Biotechnol. 126: 37–51.
- Health Canada. 2011. *Policy on Listeria monocytogenes in Ready-to-Eat Foods*, Food.
- Hoffmann S., Batz M., Morris J. 2012. *Annual Cost of Illness and Quality-Adjusted Life Year Losses in the United States Due to 14 Foodborne Pathogens*. J FOOD PROTECT, 75(7): 1292–1302.
- Jalali-Heravi M., Parastar H., Sereshti H., 2010. *Towards obtaining more information from gas chromatography–mass spectrometric data of essential oils: an overview of mean field independent component analysis*. J. Chromatogr. A 1217: 4850–4861.
- Jensen N., Aarestrup F., Jensen J., Wegener H. 1996. *Listeria monocytogenes in bovine mastitis. Possible implication for human health*. Int. J. Food Microbiol. 32: 209-216.
- Lawless J. 2002. *The encyclopedia of Essential Oils*. Thorsons London.
- Liu D., Lawrence M., Ainsworth A., Austin F. 2005. *Comparative assessment of acid, alkali and salt tolerance in Listeria monocytogenes virulent and avirulent strains*. FEMS Microbiol Lett. 243 (2): 373-378.
- Low J., Donachie W. 1997. *A review of Listeria monocytogenes and listeriosis*. Vet J. 153: 9–29.
- Newall, C., Anderson L., Phillipson J. 1996. *Herbal medicines: a guide for health-care professionals*. The Pharmaceutical Press, London: 256–257.
- Ratledge, C., Wilkinson, S.G. 1988. *An overview of microbial lipids*. In: Ratledge, C., Wilkinson, S.G. (Eds.), *Microbial Lipids*, vol. 1. Academic Press, London: 3 – 22.
- Raybaudi-Massilia R., Mosqueda-Melgar J. & Martin-Belloso O. 2006. *Antimicrobial Activity of Essential Oils on Salmonella enteritidis, Escherichia coli and Listeria innocua in Fruit Juices*. J FOOD PROTECT. 69: 1579-1586.
- Smith-Palmer A., Stewart J., Fyfe L. 1998. *Antimicrobial properties of plant essential oils and essences against five important food-borne pathogens*. Letters in Food Microbiology 26: 118 – 122.
- Tarek N., Hassan H., AbdelGhani S., Radwan I., Hammouda O. 2014. *Comparative chemical and antimicrobial study of nine essential oils obtained from medicinal plants growing in Egypt*. Beni-Suef University Journal of Basic and Applied Sciences, Vol: 3, Issue: 2, Page: 149-156.
- Tongnuanchan P. and Benjakul S. 2014. *Essential oils: Extraction, Bioactivities, and their uses for food preservation*. J. Food Sci., 79: 1231-1249.
- Vaara M. 1992. *Agents that increase the permeability of the outer membrane*. Microbiol. Rev. 56 (3): 395 – 411.
- Vazquez-Boland J., Kuhn M., Berche P. i in. 2001. *Listeria pathogenesis and molecular virulence determinants*. ClinMicrobiolRev 14: 584–640.

**Hamowanie bakterii wielolekoopornych i patogenów
przenoszonych przez żywność za pomocą substancji
przeciwbakteryjnych wytwarzanych przez szczepy *Pseudomonas*
sp. izolowane z ryb i krewetek**
Inhibition of multi-drug resistant bacteria and food-borne pathogens
by antibacterial substances produced by *Pseudomonas* sp. strains
isolated from fish and shrimps

Urszula Zarzecka
Arkadiusz Zakrzewski
Szymon Dubiejko

Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie,
Wydział Nauki o Żywności
Studenckie Koło Naukowe Mikrobiologii Żywności
Opiekun naukowy: dr inż. Wioleta Chajęcka-Wierzchowska

Abstract

Food is a source of pathogens and antibiotic-resistant microorganisms, which are an environmental reservoir of resistance genes. Due to the threat to the health of the consumer, the action is needed to eliminate them from food. Since the use of antibiotics in the production of food is prohibited, the interest in natural antibacterial substances is increasing. The solution may be the use of bacteriocins - antimicrobial polypeptides and proteins produced by many bacterial species as preservatives and alternatives to antibiotics. Pyocins produced by *Pseudomonas* strains, inhabiting many niches, including the aquatic environment and food, are very poorly known, being a common microflora of fish and seafood. Pyocin activity is mainly directed against Gram-positive bacteria. The purpose of this article is to review available literature data on bacteriocin production by *Pseudomonas* strains isolated from fish and shrimps

Keywords: *Pseudomonas*, bacteriocin, pyocin, fish, seafood

Introduction

The increasing prevalence of multidrug-resistant bacteria has caused a serious problem in the public health. For this reason the search for new antimicrobial agents has begun. They can be an important strategy in creating alternative compounds for difficult to manage microorganisms (Rice 2006). Many various reservoirs of antibiotic resistant microorganisms are known. According to the literature data food is one of the most important source of antibiotic resistant commensal and potentially pathogenic microorganisms which are an environmental reservoir of antibiotic resistance genes. In addition, food can also be a source of human pathogens, such as *Listeria monocytogenes* or *Salmonella* sp. (Founou et al. 2016).

This undesirable microorganisms pose a direct or indirect threat to the consumer health. Therefore, actions are needed to stop their growth in food. Because antibiotics are forbidden to be used in food, interest in natural antimicrobial substances is increasing (Hao et al. 2014). Many bacterial species can produce natural antimicrobial substances called bacteriocins. Their bactericidal specificity, restricted to species closely related to their producer, and chemical composition distinguish bacteriocins from other classic antibiotics. The researchers pay the most attention to bacteriocins produced by lactic acid bacteria (Hassan et al. 2012; Yang et al. 2014). Bacteriocins produced by some *Pseudomonas* strains are much less known. Although the majority of natural products has been isolated from terrestrial sources, in the last two decades several bioactive substances have been isolated from aquaculture microorganisms and they have become the new resources for the development of bacteriocins (McCaughey 2016).

Due to the fact that *Pseudomonas* is often isolated from fish and seafood such as shrimps, the aim of this article is to analyze the available literature on the production of bacteriocins with activity against multi-drug resistant strains and food-borne pathogens by *Pseudomonas* strains isolated from fish and shrimps.

Bacteriocins

Bacteriocins are ribosomally encoded proteins or short polypeptides produced by microorganisms, inhibiting growth of closely related as well as non-related bacterial strains. These toxins play an important role in mediating interactions between microbial population and environment. Bacteriocins may serve as anti-competitors enabling the invasion of a strain into an established microbial community or act as communication molecules in bacterial consortia like biofilms. i.e., they play a defensive role and act to prohibit the invasion of other strains or species into an occupied niche or limit the advance of neighbouring cells. According to literature data, more than 99% of bacterial species are able to produce at least one bacteriocin, but most of these compounds have been not identified yet. Currently discovered and characterized bacteriocins are produced by many different microorganisms and they differ significantly in structure and mechanisms of action (Riley 2002).

The basic classification of bacteriocins is based on the mechanisms of action, chemical and molecular structure, sensitivity to the enzymes and presence of modified aminoacids. Classification of bacteriocins produced by Gram-positive bacteria includes four main classes: lantibiotics, non-lantibiotic bacteriocins, high molecular weight bacteriocins and protein-lipid and protein-carbohydrate complexes (Kumariya et al. 2019). Gram-negative bacteria also have

the ability to synthesise bacteriocins. Their classification includes three groups: colicins, colicin-like bacteriocins, phage-tail like bacteriocins and microcins. Colicins are well studied, so they have been used as a model system to study another bacteriocins. In general, colicins are thermo-sensitive, protease sensitive proteins (Gwiazdowska and Trojanowska 2005). Proteinaceous bacteriocins produced by other Gram-negative species are called as colicin-like due to the similarity of structural and functional characteristics. They can be nucleases or pore-formers. Phage-tail like bacteriocins are larger structures that resemble the tails of bacteriophages which are even argued as defective phage particles. R and F pyocins produced by *Pseudomonas* are some examples of the most thoroughly studied phage-tail like bacteriocins (Nakayama et al. 2000). The smallest peptide bacteriocins produced by Gram-negative bacteria are called microcins. They can be divided into following classes: post-translationally modified and unmodified microcins.

Bacteriocins can be encoded chromosomally, or on mobile genetic elements, such as plasmids. The Gram-positive bacteriocins are more complicated genetically, with genes that encode post-translational modification of the toxin. (Michel-Briand and Baysse 2002).

Growing evidence suggests that bacteriocins have many diverse structures and modes of action. These compounds are able to selectively affect the microbiological state of many environments, including food (de Souza et al. 2005; Yang et al. 2014). Through them bacteriocinogenic microorganisms are able to affect other microorganisms, weakening them or destroying. The most common mechanism of bacteriocins' action is making pores in bacterial cell membranes, which leads to dissipation of transmembrane potential and induction of K^+ , ATP and amino acid outflows. Another mechanism is related with the ability to induce lysis of a sensitive cell. Bacteriocins have the ability to react with teichoic, lipoteichoic or teichuronic acids that are components of the bacterial cell wall. As a result of this interaction, the autolytic enzymes associated with these acids are released and activated and, as a consequence, the target cell is autolysed (Yang et al. 2014).

Bacteriocins are considered as an attractive compound in food industry to prevent food spoilage and pathogens growth. They are protein compounds that easily diffuse into the structure of food products, have no taste, smell and colour. In addition, unlike many chemical food preservatives, they are completely safe for the human organism. However, in order for bacteriocins to be able to perform the roles of biopreservatives used on an industrial scale, it is necessary to carry out detailed studies of them as well as obtain their legalization as food additives. Currently, only nisin has obtained GRAS (generally recognized as safe) status

and can be used as a preservative in the food industry (de Souza et al. 2005; Singh et al. 2018; Silva et al. 2018).

***Pseudomonas* sp. as a producer of bacteriocin**

Among Gram-negative microorganisms, the colicins produced by *Enterobacteriaceae* are by far the best studied group of natural, narrow-spectrum antagonistic proteins. However, according to literature, an important producer of bacteriocins are also gram-negative rods of the genus *Pseudomonas*. They are common inhabitants of soil, fresh water, and aquaculture environments. *Pseudomonas aeruginosa* species receives more attention since it is also an opportunistic pathogen, causing human diseases. Most *Pseudomonas* strains synthesise bacteriocins (Michel-Briand and Baysse 2002). *Pseudomonas* species are important spoilage organisms in many chilled food products, such as milk, meat, fish and seafood, in which they become the dominant microflora during chill storage due to their rapid growth at chill temperature.

Several bacteriocins produced by *Pseudomonas* share basic characteristics with colicins. François Jacob as the first described a bacteriocin from *Pseudomonas*. Insights from colicin biology have been basis to discover analogy with colicins, primarily their similar cytotoxicities. Due to this fact, these compounds were named as pyocins. Iwalokun et al. (2006) reported that the production of bacteriocins may be related to the virulence of *Pseudomonas* strains.

The capacity to produce bacteriocins is widespread in *Pseudomonas* genus, but generally their production level is low, since only a few species are involved in this process. It is stated that the treatment of the culture by mutagenic agents, as ultraviolet irradiation or mitomycin C significantly increases the production rate (Jacob et al. 1954; Kageyama 1964). Pyocins can take the form of a DNase, tRNase, pore former or they can inhibit peptidoglycan synthesis. Expression of three types of pyocins: S, F, and R have been demonstrated in *Pseudomonas* and regulation of these bacteriocins in bacteria is under SOS control. The functional domains of most pyocins could also be the basis for their varied expressions as these functions may determine the mechanism of virulence amongst *Pseudomonas* (Sano et al. 1993).

First identified pyocin, pyocin R, has occurred as a rod-like particle resembling a bacteriophage tail. All R-type pyocins are nuclease- and protease resistant. These properties, among other, facilitate the pyocin purification. A second type of particular pyocin has been

identified by Takeya (Michel-Briand and Baysse 2002). It is also nuclease- and protease-resistant, and occurs as a flexuous rod-like structure, and has been named pyocin F. It was found to be associated with R pyocin. The receptor for these two types of pyocins mainly constituted of lipopolysaccharide (LPS). Immediately after adsorption to sensitive cell, pyocin blocks the molecules synthesis and releases intracellular material, which is followed by cell death (Govan 1974; Kuroda and Kageyama 1981).

S pyocin was identified from lysate of *P. aeruginosa* strain. It is protease sensitive, in opposite to R and F pyocins. It causes cell death by DNA damage due to an endonuclease activity (Duport et an. 1995). Pyocin S is able to inhibit phospholipid synthesis under iron-limited conditions (Michel-Briand and Baysse 2002). This inhibition is linked to the presence of the DNase domain, but is independent of DNase activity. This bacteriocin binds to specific receptors in the bacterial outer membrane of Gram-negative bacteria, before being translocated through the membrane.

One strain often produces more than one pyocin. R and F pyocins are produced by more than 90% of the *Pseudomonas* strains, and S pyocin by 70% of them. Production of pyocins in *Pseudomonas* is inducible by treatments causing DNA damage and is effectively dependent of the *recA* gene. No gene related to lysis function had been identified for any type of pyocin (Nakayama et an. 2000).

Initially it was thought that bacteriocins of *Pseudomonas* are able to destruction only other *Pseudomonas* strains. However, it has been demonstrated that the antimicrobial spectrum of these bacteriocins exceeds such definition. They show activities against not only other *Pseudomonas* species, such as, *P. aeruginosa*, *P. fluorescens* or *P. putida* but also others bacterial genus, as *Burkholderia cepacia*, *Neisseria meningitidis*, *N. gonorrhoeae*, *Haemophilus ducreyi* and *Campylobacter* spp. (Ritchie et an. 2011; Dingemans 2016).

Bacteriocins of *Pseudomonas* sp. isolated from fish and shrimps against multi-drug resistant microorganisms and food-borne pathogens

For many years, antibiotics have been used to combat bacterial infections in humans and animals. However, occurrence of antibiotic-resistant microorganisms in various environments as a consequence of excessive antibiotic use have become a major public health concern. The increasing prevalence of multidrug-resistant bacteria has thus made the search for new antimicrobial. A new class of antimicrobial substances, termed “natural antibiotics”,

may be an alternative for combating antibiotic resistance. One of such natural products are bacteriocins (Ahmad et al. 2013).

The possible interaction between *Pseudomonas* sp. and other microorganisms in foods, especially fish and seafood has received limited attention. According to literature data, the presence of bacteriocinogenic *Pseudomonas* strains may protect some species of fish against diseases due to inhibition of pathogens' growth (de la Fuente et al. 2015; Liu et al. 2015). *Pseudomonas fluorescens* reduced mortality of rainbow trout from 47 to 32% due to infection with *Vibrio anguillarum* (Gram et al. 1999). Spanggaard et al. (2002) recovered 1018 bacterial and yeast isolates from rainbow trout of which 45 showed the ability to inhibit *Vibrio anguillarum* in a disc diffusion assay. It was demonstrated that dominant antagonists were *Pseudomonas* strains, which improved the survival of rainbow trout against vibriosis. Yet, *Pseudomonas fluorescens* strain which was regarded as an effective for rainbow trout protection against vibriosis, did not protect Atlantic salmon against infection with *Aeromonas salmonicida* despite in vitro methods indicating inhibition of pathogen's growth (Gram et al. 2001; Irianto and Austin 2002).

Available studies show also that *Pseudomonas* sp. isolated from seafood and fish have a broad antibacterial spectrum, inhibiting both Gram-negative and Gram-positive microorganisms (Gram 1993). The inhibitory ability among *Pseudomonas* species seems to be more widespread than among other psychrotrophic bacteria isolated from fish. Similar activities have been reported for aquatic *Pseudomonas* sp. but also for plant-associated *Pseudomonas* strains. (Ismail et al. 2016). Inhibitory activity was most pronounced among siderophore-producing strains, it may be due to the antibiotic activity of the siderophores (Henry et al. 1991). Other studies have similarly shown that culturing *Pseudomonas* sp. on substrates inducing siderophore production enhances inhibitory activity (Miethke and Marahiel 2007; Wensing et al. 2010).

The interaction between *Pseudomonas* sp. and *Listeria monocytogenes* has been also described. Results showed inhibition of *Listeria monocytogenes* growth by *Pseudomonas* sp. (Belák and Maráz 2015). One study showed that there are strains of *Pseudomonas* spp. isolated from food which inhibit the growth of both Gram-positive and Gram-negative microorganisms in laboratory media. This inhibitory action was enhanced on King's B agar, compared with the inhibitory action observed in assays with Brain Heart Infusion Agar. Studies of microbial interaction in foods have focused on the potential inhibition of pathogenic microorganisms,

and only one study has related the findings to the changes in commensal microflora during storage (Gram 1993).

Darabpour et al. (2010) received the results which showed that compounds produced by *Pseudomonas aeruginosa* had antibacterial effect on all of the tested Gram-positive microorganisms while all of the Gram-negative were resistant to them. This difference may be due to several possible reasons such as presence of enzymes in periplasmic space which are able to break down foreign molecules. These results showed also remarkable antibacterial activity against methicillin resistant *Staphylococcus aureus* strain simultaneously resistant to broad spectrum of various antibiotics. Ahmad et al. (2013) isolated from fish *Pseudomonas* strains of broad inhibitory spectrum against both Gram-negative and Gram-positive microorganisms, i.e. *Bacillus thuringiensis*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Enterobacter aerogenes*, *Serratia marcescens*, *Salmonella* sp., *Klebsiella pneumoniae*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Vibrio alginolyticus*, *Vibrio vulnificus*, *Vibrio harveyi*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Pseudomonas putida*.

Researches' results show that antibacterial compounds produced by *Pseudomonas* strains isolated from fish and seafood have major activity against the pathogenic microorganisms than on multi-drug resistant bacteria. Similar results are obtained by researchers analysing *Pseudomonas* strains isolated from other sources (Shanmugaraju et al. 2012).

Potential application in food industry

There are many factors playing a significant role in the potential using bacteriocins as bio-preservatives in the food industry, especially for preserving seafood. The natural microflora of the seafood needs to be surveyed for its sensitivity to bacteriocins on a larger scale. This information should be incorporated into the guidelines for bacteriocins using in order to use these compounds prudently against relevant pathogens. The environmental conditions during seafood growth and processing, such as pH and temperature, could also affect the activity of applied bacteriocins and requires further investigation (Galvez et al. 2007). Despite these factors, research on aquatic microorganisms has shown that bacteriocins production and diversity in aquatic environment is abundant. Relatively narrow killing spectrum of bacteriocins compared to traditional antibiotics limits the selective pressure for bacteria to evolve resistance to these antimicrobials and thus reduces the incidence of resistant pathogens. It has also been suggested that bacteriocins could be combined with current methods

of antimicrobial treatment and preservation to produce synergistic effects. An example of such an application can be incorporating bacteriocins into bio-active packaging. Creating combinations of bacteriocins with current methods used in the seafood industry has the potential to increase the guarantee of freshness by assuring the inhibition of spoilage causing microorganisms (Rajaram et al. 2010; Valenzuela et al. 2010; Silva et al. 2018).

Conclusions

The occurrence of human pathogens in food as well as the emergence of multi-drug resistant strains while prohibiting the use of antibiotics in the food production required the discovery of new antimicrobials, produced in a natural way. This review has documented that psychrotrophic species of *Pseudomonas* sp. isolated from spoiled and fresh fish and seafood have the ability to produce protein compounds with antibacterial properties. This effect is largely determined by the siderophore competition for iron. Research on the role of bioactive compounds produced by *Pseudomonas* sp. in biopreservation of food as well as natural defence of fish against infections and microflora selection in food products should be continued on a larger scale.

References

- Ahmad A., Hamid R., Dada A. C., Usup G. 2013. *Pseudomonas putida* Strain FStm2 Isolated from Shark Skin: A Potential Source of Bacteriocin. *Probiotics Antimicrob. Proteins*, 5(3): 165-175.
- Belák Á., Maráz A. 2015. *Antagonistic Effect of Pseudomonas sp. CMI-1 on Foodborne Pathogenic Listeria monocytogenes*. *Food Technol. Biotechnol.*, 53(2): 223-230.
- Darabpour E., Ardekani M. R., Matamedi H., Ghezelbash G., Ronagh M. T. 2010. *Isolation of an antibiotic producer Pseudomonas sp. from the Persian Gulf*. *Asian Pac. J. Trop Dis.*, 3(4): 318-321.
- de la Fuente M., Mirand C. D., Jopia P., González-Rocha G., Guillani N., Sossa K., Urrutia H. 2015. *Growth inhibition of bacterial fish pathogens and quorum-sensing blocking by bacteria recovered from Chilean salmonid farms*. *J. Aquat. Anim. Health*, 27(2): 112-122.
- de Souza E. L., da Silva C. A., de Sousa C. P. 2005. *Bacteriocins: Molecules of Fundamental Impact on the Microbial Ecology and Potential Food Biopreservatives*. *Braz. Arch. Biol. Technol.*, 48(4): 559-566.
- Dingemans, J., Ghequire, M. G., Craggs, M., De Mot, R., Cornelis, P. 2016. *Identification and functional analysis of a bacteriocin, pyocin S6, with ribonuclease activity from a Pseudomonas aeruginosa cystic fibrosis clinical isolate*. *MicrobiologyOpen*, 5(3): 413-423.
- Duport C., Baysse C., Michel-Briand Y. 1995. *Molecular characterization of pyocin S3, a novel S-type pyocin from Pseudomonas aeruginosa*. *J. Biol. Chem.*, 270: 8920–8927.

- Founou L. L., Founou R. C., Essack S. Y. 2016. *Antibiotic Resistance in the Food Chain: A Developing Country-Perspective*. *Front. Microbiol.*, 7: 1881.
- Galvez A., Abriouel H., Lopez R. L., Ben Omar N. 2007. *Bacteriocin-based strategies for food biopreservation*. *Int. J. Food Microbiol.*, 120(1-2): 51-70.
- Gram L. 1993. *Inhibitory Effect against Pathogenic and Spoilage Bacteria of Pseudomonas Strains Isolated from Spoiled and Fresh Fish*. *Appl. Environ. Microbiol.*, 59(7): 2197-2203.
- Gram L., Jette M., Bettina S., Ingrid H., Nielsen T. F. 1999. *Inhibition of Vibrio anguillarum by Pseudomonas fluorescens AH2, a possible Probiotic Treatment of Fish*. *Appl. Environ. Microbiol.*, 65: 969-973.
- Gram L., Løvold T., Nielsen J., Melchiorson J., Spangaard B. 2001. *In vitro antagonism of the probiont Pseudomonas fluorescens strain AH2 against Aeromonas salmonicida does not confer protection of salmon against furunculosis*. *Aquacult.*, 199: 1-11.
- Gwiazdowska D., Trojanowska K. 2005. *Bakteriocyny – właściwości i aktywność przeciwdrobnoustrojowa*. *Biotechnologia*, 1(68): 114-130.
- Govan J. R. 1974. *Studies on the pyocins of Pseudomonas aeruginosa: morphology and mode of action of contractile pyocins*, *J. Gen. Microbiol.*, 80: 1-15.
- Hao H., Cheng G., Iqbal Z., Ai X., Hussain H. I., Huang L., Dai M., Wang Y., Liu Z., Yuan Z. 2014. *Benefits and risks of antimicrobial use in food-producing animals*. *Front. Microbiol.* 5: 288.
- Hassan M., Kjos M., Nes I. F., Diep D. B., Lotfipour F. 2012. *Natural antimicrobial peptides from bacteria: characteristics and potential applications to fight against antibiotic resistance*. *J. Appl. Microbiol.*, 113(4): 723-736.
- Henry M. B., Lynch J. M., Femor T. R. 1991. *Role of siderophores in the biocontrol of Pseudomonas tolaasii by fluorescent pseudomonad antagonist*. *J. Appl. Bacteriol.* 70: 104-106.
- Irianto A., Austin B. 2002. *Probiotics in aquaculture*. *J. Fish Dis.*, 25: 63-642.
- Ismail A., Ktari L., Ahmed M., Bolhuis H., Boudabbous A., Stal L. J., Cretoiu M. S., El Bour M. 2016. *Antimicrobial Activities of Bacteria Associated with the Brown Alga Padina pavonica*. *Front. Microbiol.* 7: 1072.
- Iwalokun B. A., Akinsinde K. A., Lanlenhin O., Onubogu C. C. 2006. *Bacteriocinogenicity and production of pyocins from Pseudomonas species isolated in Lagos, Nigeria*. *Afr. J. Biotechnol.*, 5(11): 1072-1077.
- Jacob F. 1954. *Biosynthèse induite et mode d'action d'une pyocine, antibiotique de Pseudomonas pyocyanea*. *Ann. Inst. Pasteur*, 86: 149-160.
- Kageyama M. 1964. *Studies of a pyocin. I. Physical and chemical properties*. *J. Biochem. (Tokyo)* 55: 49-53.
- Kumariya R., Garsa A. K., Rajput Y. S., Sood S. K., Akhtar N., Patel S. 2019. *Bacteriocins: Classification, synthesis, mechanism of action and resistance development in food spoilage causing bacteria*. *Microb. Pathog.*, 128: 171-177.
- Kuroda K., Kageyama M. 1979. *Biochemical properties of a new flexuous bacteriocin, pyocin F1, produced by Pseudomonas aeruginosa*, *J. Biochem. (Tokyo)*, 85: 7-19.

- Liu Y., Rzeszutek E., van der Voort M., Wu C. H., Thoen E., Skaar I., Bulone V., Dorrestein P. C., Raaijmakers J. M., de Bruijn I. 2015. *Diversity of Aquatic Pseudomonas Species and Their Activity against the Fish Pathogenic Oomycete Saprolegnia*. PLoS One, 10(8): e0136241.
- McCaughey L. C., Josts I., Grinter R., White P., Byron O., Tucker N. P., Matthews J. M., Kleanthous C., Whitchurch C. B., Walker D. 2016. *Discovery, characterization and in vivo activity of pyocin SD2, a protein antibiotic from Pseudomonas aeruginosa*. Biochem. J., 473(15): 2345-2358.
- Michel-Briand Y., Baysse C. 2002. *The pyocins of Pseudomonas aeruginosa*. Biochimie, 84: 499-519.
- Miethke M., Marahiel M. A. 2007. *Siderophore-based iron acquisition and pathogen control*. Microbiol. Mol. Biol. Rev., 71(3): 413-451.
- Nakayama K, Takashima K, Ishihara H, Shinomiya T, Kageyama M. 2000. *The R-type pyocin of Pseudomonas aeruginosa is related to P2 phage, and the F-type is related to lambda phage*. Mol. Microbiol., 38(2): 213-231.
- Nischie M., Nagao J. I., Sonomoto K. 2012. *Antibacterial peptides „bacteriocins”: an overview of their diverse characteristics and applications*. Biocontrol Sci., 17(1): 1-16.
- Rajaram G., Manivasagan P., Thilagavathi B., Saravanakumar A. 2010. *Purification and Characterization of a Bacteriocin Produced by Lactobacillus lactis Isolated from Marine Environment*. Adv. J. Food Sci. Technol., 2(2): 138-144.
- Rice L. B. 2006. *Antimicrobial resistance in Gram-positive bacteria*. Am. J. Infect. Control., 34(Suppl. 1): 11-19.
- Riley M. A., Wertz J. E. 2002. *Bacteriocin diversity: ecological and evolutionary perspectives*. Biochimie, 84(5-6): 357-364.
- Ritchie J. M., Greenwich J. L., Davis B. M., Bronson R. T., Gebhart D., Williams S. R., Martin D., Scholl D., Waldor M. K. 2011. *An Escherichia coli O157-specific engineered pyocin prevents and ameliorates infection by E. coli O157:H7 in an animal model of diarrheal disease*. Antimicrob. Agents Chemother., 55: 5469–5474.
- Sano Y., Matsui H., Kobayashi M., Kageyama M. 1993. *Molecular structures and functions of pyocins S1 and S2 in Pseudomonas aeruginosa*. J. Bacteriol., 175(10): 2907-2916.
- Shanmugaraju V., Chidambararajan R., Sivakumar N. 2012. *Partial purification and characterization of Anti-MRSA Peptide from Marine Pseudomonas aeruginosa*. Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci., 1(1): 40-49.
- Silva C. C. G., Silva S. P. M., Ribeiro S. C. 2018. *Application of Bacteriocins and Protective Cultures in Dairy Food Preservation*. Front. Microbiol. 9: 594.
- Singh V. P. 2018. *Recent approaches in food bio-preservation - a review*. Open Vet. J., 8(1): 104-111.
- Spanggaard B., Huber I., Nielsen J., Gram L. L. 2002. *The probiotic potential against vibriosis of the indigenous micro-fora of rainbow trout*. Environ. Microbiol., 3: 755–765.
- Valenzuela A.S., Benomar N., Abriouel H., Canamero M. M., Galvez A. 2010. *Isolation and identification of Enterococcus faecium from seafoods: antimicrobial resistance and production of bacteriocin-like substances*. Food Microbiol., 27(7): 955-961.

- Wensing A., Braun S. D., Büttner P., Expert D., Völksch B., Ullrich M. S., Weingart H. 2010. *Impact of siderophore production by Pseudomonas syringae pv. syringae 22d/93 on epiphytic fitness and biocontrol activity against Pseudomonas syringae pv. glycinea 1a/96*. Appl. Environ. Microbiol., 76(9): 2704-2711.
- Yang S. C., Lin C. H., Sung C. T., Fang J. Y. 2014. *Antibacterial activities of bacteriocins: application in foods and pharmaceuticals*. Front. Microbiol., 5: 241.

Synteza i właściwości estrów kurkuminy

The esters of curcumin- synthesis and properties

Monika Retajczyk

Zachodniopomorski Uniwersytet Technologiczny w Szczecinie
Wydział Technologii i Inżynierii Chemicznej
Doktoranckie Koło Naukowe „Zielona Chemia”
Opiekun: dr hab. inż. Robert Pelech

Abstract

Curcumin is a chemical compound belonging to the group of polyphenols. This compound is mainly used in the food industry as a dye. Studies of researchers are focused on improving the physicochemical properties of curcumin by modifying its structure. Modifications of the structure of curcumin can influence on the antioxidant properties that are important from the point of view of medicine. The cause of many diseases are free radicals, which arise, among others, during the aging of the human body. It is believed that oxidative stress contributes to such civilization diseases as atherosclerosis, diabetes, cataracts, Parkinson's disease and even Alzheimer's disease. The following work presents the synthesis of curcumin acetate, analysis of the structure of the obtained product and the study of antioxidant properties of curcumin and curcumin acetate.

Keywords: curcumin, curcumin acetate, antioxidant properties

Wstęp

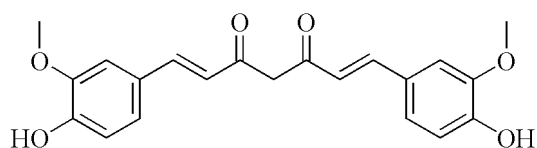
Kurkumina ((1E,6E)-1,7-bis(4-hydroksy-3-metoksyfenyl)-1,6-heptadien-3,5-dion) to związek chemiczny zaliczany do grupy polifenoli (Rysunek 1). Jest pozyskiwana z kłącza kurkumy (*Curcuma longa* L.), zwanej także ostrzyżem długim lub szafranem indyjskim (Ravindran i in. 2007). Kurkumina została wyizolowana z kłącza kurkumy po raz pierwszy w 1815 roku (Shishodia i in. 2007). Związek ten występuje w postaci żółto-pomarańczowego ciała stałego o temperaturze topnienia 186°C. Kurkumina charakteryzuje się dobrą rozpuszczalnością, w takich rozpuszczalnikach jak: etanol, aceton, metanol, natomiast bardzo słabo rozpuszcza się w wodzie (Joe i in. 2004).

Kurkumina była stosowana w medycynie naturalnej od tysięcy lat. Wykorzystywano ją jako środek przeciw nadmiernemu apetytowi, w leczeniu żółtaczki oraz schorzeniach układu pokarmowego. Kurkuma służyła w leczeniu takich dolegliwości jak: kolki, bóle zębów i klatki piersiowej, a także bólu menstruacyjnego. Stosowano ją także jako środek wspomagający

gojenie ran i leczenie przebarwień skórnych. Współcześnie jest szeroko stosowana jako barwnik w przemyśle spożywczym do barwienia produktów cukierniczych, piekarniczych, mlecznych, konserw warzywnych, musztard, sosów majonezowych, margaryn, napoi, przetworów mięsnych oraz do poprawy barwy suszonych ziemniaków. Producenci żywności chętnie zastępują barwniki syntetyczne naturalnymi, stąd duża popularność kurkuminy w przemyśle spożywczym (Kozłowska i in. 2012).

Współczesna medycyna naturalna również korzysta z dobrodziejstw kurkuminy. Nadal stosuje się ją m.in. w leczeniu chorób skóry (np. trądziku), infekcji oczu, a także w dolegliwościach układu pokarmowego, takich jak: biegunki, nadkwasota, czy niestrawność. Tak szeroka gama zastosowań kurkuminy wynika z jej unikalnych właściwości antyseptycznych, antyoksydacyjnych, przeciwzapalnych a także przeciwnowotworowych. (Sikora-Polaczek i in. 2011).

Rysunek 3 Struktura kurkuminy



Źródło: Opracowanie własne.

W celu polepszenia właściwości kurkuminy, takich jak: poprawa jej właściwości fizykochemicznych, czy zwiększenie jej stabilności, modyfikuje się jej strukturę. Modyfikacja kurkuminy można sklasyfikować w trzech typach. Jednym z nich są modyfikacje w obrębie łącznika alkilowego, znajdującego się pomiędzy pierścieniami aromatycznymi. Drugim typem modyfikacji struktury kurkuminy jest wprowadzanie podstawników w pierścień aromatyczny. Natomiast ostatni typ zmian w strukturze kurkuminy obejmuje tworzenie kompleksów z jonami metali (Deptuła 2016).

Możliwości modyfikacji kurkuminy

Jedną z najprostszych modyfikacji struktury kurkuminy jest redukcja wiązań podwójnych w obrębie łańcucha 3,5-dioksa-1,6-heptadienowego, który łączy pierścienie aromatyczne. Modyfikacja ta prowadzi do otrzymania tetrahydrokurkuminy, posiadającej

lepsze właściwości przeciwutleniające w porównaniu z kurkumina. Badania wykazały, że związek ten wykazuje znakomite właściwości przeciwutleniające, które mogą być potencjalnie wykorzystane w leczeniu cukrzycy typu II. Za rozwój i powikłania w cukrzycy typu II, odpowiedzialny jest m.in. stres oksydacyjny. Wyniki testów przeprowadzonych na szczurach wykazały, że po 45-dniowej kuracji tetrahydrokurkumina, stężenie glukozy we krwi badanych szczurów znacząco się obniżyło (Murugan i Pari 2006).

Stosunkowo wysoką reaktywnością charakteryzują się grupy hydroksylowe przy pierścieniach aromatycznych kurkuminy, co stwarza duże możliwości modyfikacji w obrębie tych ugrupowań cząsteczki. Badania wykazały, że zamiana grupy hydroksylowej na metoksyłową, zwiększa aktywność cytotoksyczną związku. Zostało to udowodnione w badaniach z użyciem komórek nowotworowych m.in. płuc nerki, sutka, mózgu i wątroby. Ponadto, taka pochodna kurkuminy, wykazuje lepszą stabilność.

Kluczową rolę w aktywności przeciwnowotworowej kurkuminy odgrywa tlen połączony z pierścieniem aromatycznym. Zostało to potwierdzone badaniami, w których zastąpienie atomu tlenu halogenem, powoduje utratę właściwości przeciwnowotworowych. Ponadto zaobserwowano, że podstawienie atomu wodoru grupą acetylową w grupie fenolowej, nie ma znaczącego wpływu na aktywność cytotoksyczną, jednakże poprawia właściwości przeciwbakteryjne oraz przeciwgrzybiczne. (Deptuła i in. 2014).

Kurkumina jest trudna do wykorzystania w leczeniu klinicznego leczenia ze względu na jej niską biodostępność a także niestabilność hydrolityczną. Związek ten jest słabo wchłaniany z przewodu pokarmowego ze względu na jej hydrofobowy charakter (Anand i in. 2007). Problem ten rozwiązuje utworzenie kompleksów kurkuminy z metalami. Ostatnio przeprowadzone badania wykazały, że kompleksy kurkuminy z metalami, takimi jak: Zn^{2+} , Cu^{2+} , Mg^{2+} , wykazują stabilność w żywych komórkach ssaków (Banerjee 2014). Do kompleksowania kurkuminy są wykorzystywane inne struktury, takie jak: albuminy, liposomy, nanocząsteczki, piperyny czy fosfolipidy (Jithan i in. 2011). Wśród kompleksów kurkuminy warto wyróżnić kompleksy z metalami, które mogą względnie łatwo zmieniać swój stopień utlenienia. Zastosowanie takich metali w kompleksie z kurkumina, może doprowadzić do uzyskania związków wykazujących działanie pro-, a także antyoksydacyjne. Do takich metali można zaliczyć mangan, miedź i żelazo. Działanie przeciwutleniające takich kompleksów z metalami polega na katalizowaniu rozkład rodnika ponadtlenkowego do tlenu i nadtlenku wodoru.

Kompleksy metali z kurkumina mają potencjał w terapii przeciwnowotworowej. Szczególnie kompleks kurkuminy z miedzią. Badania, w których wykorzystano komórki raka piersi oraz guza Ehrlicha wykazały, że tego typu kompleks nasila hamowanie podziałów komórkowych. Ponadto zaobserwowano, że myszy chore na białaczkę, poddane terapii kompleksem kurkuminy z miedzią, przeżyły dłużej w porównaniu z myszami nie poddanymi takiemu leczeniu (Deptuła 2016).

Właściwości przeciwutleniające

Reaktywne formy tlenu są uwalniane przez organizm w wyniku fotoutleniania, stresu fizjologicznego lub działania układu odpornościowego. Pełnią funkcję mediatorów i regulatorów wielu procesów komórkowych. Zalicza się do nich: nadtlenki organiczne i nieorganiczne, tlen singletowy oraz wolne rodniki. Uczestniczą m.in. w regulacji procesów odpornościowych. W czasie starzenia się organizmu człowieka, dochodzi do zachwiania równowagi pomiędzy wydzielaniem wolnych rodników tlenowych a ich usuwaniem z komórki przez systemy antyoksydacyjne, co może być przyczyną stresu oksydacyjnego. Wolne rodniki posiadają niesparowany elektron i charakteryzują się dużą reaktywnością względem elektronów. Pobierają zatem elektrony od innych cząsteczek, dzięki czemu stają się stabilne. W wyniku tego powstają nowe rodniki, zdolne do atakowania nowych cząsteczek, co może zaburzać prawidłowe funkcjonowanie organizmu i prowadzić do wielu groźnych chorób. Uważa się, że wolne rodniki są początkiem rozwoju, takich chorób cywilizacyjnych jak: miażdżyca, cukrzyca, zaćma, choroba Parkinsona, a także choroba Alzheimera (Igielska-Kalwat i in. 2015).

Właściwości przeciwutleniające posiadają związki zawierające grupę -OH, która redukuje wolne rodniki. Szczególne właściwości przeciwutleniające wykazują związki fenolowe. Łatwo wychwytyują rodnik a powstały wolny rodnik fenolowy jest na tyle stabilny (delokalizacja rodnika na skutek rezonansu), że nie jest w stanie oderwać atomu wodoru z cząsteczki kwasu tłuszczowego. W działaniu przeciwutleniaczy można wyróżnić dwa rodzaje mechanizmów. Jeden z nich polega na przekazaniu rodnikom atomów wodoru lub elektronów, co pozwala na uzyskanie związków o większej stabilności. Do tej grupy przeciwutleniaczy można zaliczyć: fenole (galusany), hydrochinony, trihydroksybutylofenony i tokoferole. Drugi mechanizm polega na wychwytywaniu tlenu oraz chelatowaniu jonów biorących udział w tworzeniu się rodników. Do tej grupy antyoksydantów można zaliczyć m. in.: kwas

askorbinowy, palmitynian askorbylu, aminokwasy, flawonoidy, witamina A, karotenoidy (Moise 2014; Grajek 2007).

Skuteczność antyoksydantów bada się w oparciu o ich zdolność do dezaktywacji wolnych rodników. Często wykorzystywaną metodą jest metoda z użyciem DPPH (1,1-difenylo-2-pikrylohydrazyl). DPPH to stabilny wolny rodnik, który posiada niesparowany elektron na powłoce walencyjnej na jednym z atomów azotu, tworzących mostek azotowy.

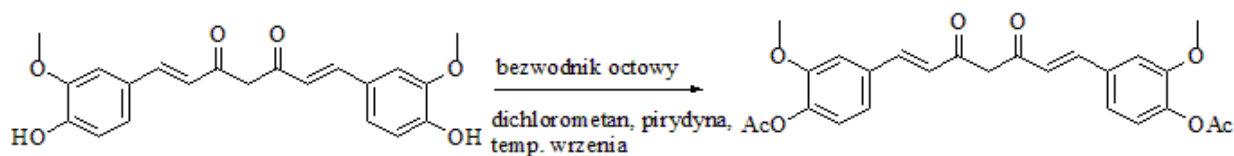
DPPH tworzy stabilny kationorodnik, a jego roztwór ma ciemnofioletową barwę o maksimum absorpcji w roztworze etanolowym przy długości fali $\lambda = 517$ nm. W reakcji z substancją, która może oddać atom wodoru, tworzy formę zredukowaną DPPH (Rys. 1) i wówczas zanika fioletowe zabarwienie roztworu. Spadek absorpcji jest proporcjonalny do ilości formy utlenionej DPPH, jaka pozostaje w roztworze (Igielska-Kalwat i in. 2015).

Cel i metoda

Celem pracy było otrzymanie estru kurkuminy (dioctanu kurkuminy), zbadanie właściwości antyoksydacyjnych uzyskanego estru oraz jej porównanie z właściwościami antyoksydacyjnymi kurkuminy.

Syntezę kurkuminy przeprowadzono zgodnie z recepturą Liu i współpracowników (Liu i in. 2013).

Rysunek 4 Synteza dioctanu kurkuminy, w której substratem jest kurkumina



Źródło: Opracowanie własne.

Do roztworu kurkuminy (2,50 g, 6,8 mmol) w chlorku metylenu (30 ml), dodano bezwodnik octowy oraz pirydynę. Mieszaninę utrzymywano w temperaturze wrzenia pod chłodnicą zwrotną przez 2 godziny. Otrzymaną mieszaninę zatężono pod zmniejszonym ciśnieniem. Następnie dodano metanol (50 ml) do pozostałości. Otrzymano żółte ciało stałe.

Zmierzono temperaturę topnienia uzyskanego produktu. Pomiaru dokonano za pomocą automatycznego systemu pomiaru temperatury topnienia OptiMelt MPA 100 (SRS – Stanford Research System), wyposażonego w wbudowany czujnik temperatury Pt RTD oraz kontroler temperatury typu PID ze sprzężeniem zwrotnym. Parametry pomiaru były następujące: szybkość grzania 5°C/min, zakres 25-400°C, dokładność pomiaru 0,3°C.

Pomiary spektroskopowe w podczerwieni FT-IR, wykonano za pomocą aparatu Nicolet 380 firmy Thermo Electron Corporation metodą pastylki w KBr w zakresie liczb falowych od 4000 cm⁻¹ do 400 cm⁻¹.

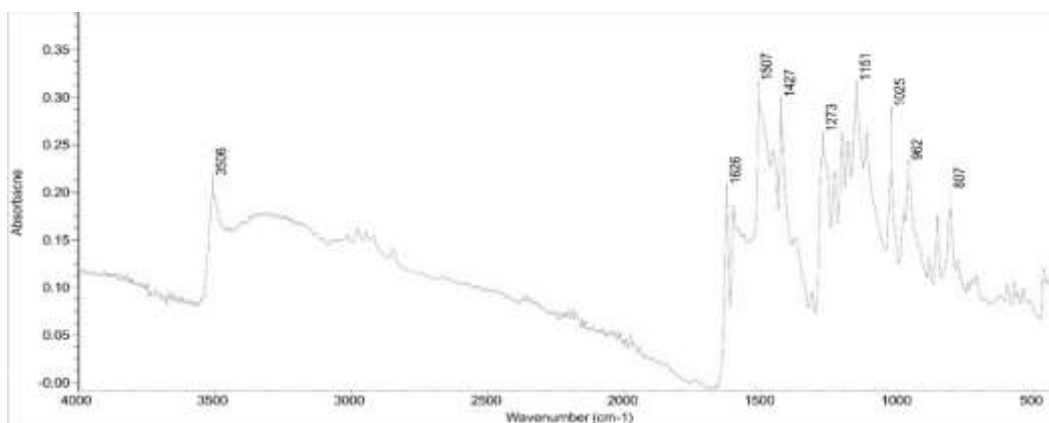
Aktywność antyoksydacyjną oznaczano według zmodyfikowanej metody Branda-Wiliamsa i współpracowników (Branda-Wiliamsa i in. 1995). W badaniu wykorzystano syntetyczny rodnik DPPH (1,1-difenylo-2-pikrylohydrazyl, Sigma). Przygotowano etanolowy roztwór DPPH poprzez rozpuszczenie 10 mg DPPH w 10 cm³ etanolu. Wyznaczono maksimum absorbancji roztworu (517 nm). Następnie otrzymany roztwór rozcieńczono tak, aby jego absorbancja, przy długości fali $\lambda = 517$ nm, wynosiła ok. 0,9. Roztwór przechowywano w ciemności. Zbadano zdolność antyoksydacyjną roztworu kurkuminy i dioctanu kurkuminy, które przygotowano w kolbie miarowej poprzez rozpuszczenie odpowiedniej ilości związku w etanolu tak, aby otrzymać roztwory o stężeniu około 1mmol/dm³. Próba badana zawierała 3,5 cm³ etanolowego roztworu DPPH, do której dodano 50, 100 lub 200 μ l roztworu kurkuminy o stężeniu 1,08mmol/dm³ lub dioctanu kurkuminy o zbliżonym stężeniu 0,907 mmol/dm³. W wyniku tego uzyskano roztwory kurkuminy w DPPH o następujących stężeniach: 153, 301 oraz 586 mmol/dm³ oraz roztwory dioctanu kurkuminy w DPPH o następujących stężeniach: 139, 275 oraz 536 mmol/dm³. Na początku zmierzono absorbancję roztworu rodnika DPPH (A_0) a po dodaniu badanego roztworu antyoksydanta mierzono absorbancję przez 10 minut od zainicjowania reakcji. Każdy pomiar wykonano trzykrotnie i obliczono średnią wartość absorbancji (A_{sr}) dla danego roztworu.

Obliczenia wykonano w następujący sposób: trzykrotnie zmierzono absorbancję roztworu rodnika DPPH (A_0). Średnia wartość absorbancji (A_0) obliczona z trzech pomiarów, wynosiła 0,914. Zdolność badanego antyoksydantu do przeciwdziałania reakcji utleniania obliczono korzystając ze wzoru % inhibicji = 100 ($A_0 - A_{\text{sr}}$) / A_0 gdzie: A_{sr} - średnia wartość absorbancji badanego roztworu zawierającego antyoksydant, A_0 - absorbancja roztworu rodnika DPPH.

Wyniki badań

W wyniku syntezy otrzymano 2,34 g ciała stałego z wydajnością 80,63% o żółtej barwie, którego temperatura topnienia wynosi 159°C. Zgodnie z danymi literaturowymi, temperatura topnienia dioctanu kurkuminy, mieści się w przedziale 155°C-157°C, co potwierdza otrzymanie pożądanego produktu. Na rysunku 3 przedstawiono widmo kurkuminy, która jest substratem w syntezie dioctanu kurkuminy.

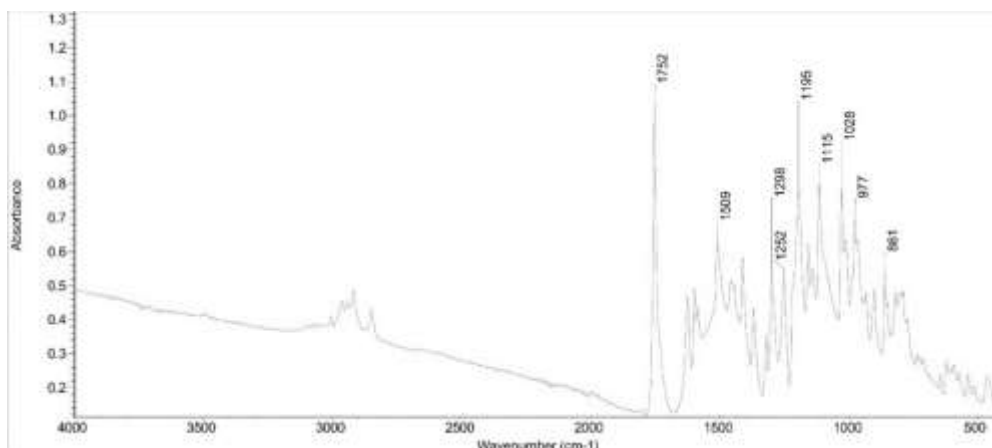
Rysunek 5 Fourier transform infrared spectroscopy of the curcumin



Źródło: Opracowanie własne.

Na rysunku 4 zostało przedstawione widmo produktu uzyskanego we wcześniej opisanym procesie syntezy.

Rysunek 6 Fourier transform infrared spectroscopy of the curcumin acetate



Źródło: Opracowanie własne.

Na podstawie uzyskanych widm FT-IR można stwierdzić, że w wyniku syntezy uzyskano produkt, który różni się strukturą od substratu i może nim być dioctan kurkuminy. Na widmie produktu brak jest szerokiego pasma przy liczbie falowej 3506 cm^{-1} pochodzącego od ugrupowania -OH oraz pojawiło się silne pasmo przy liczbie falowej 1752 cm^{-1} pochodzące od drgań rozciągających C=O ugrupowania estrowego. Obraz ten wyraźnie wskazuje na diacetylową pochodną kurkuminy.

W tabeli 1 zestawiono wyniki badań aktywności przeciwutleniającej kurkuminy i dioctanu kurkuminy, uzyskanych metodą DPPH. Parametrem, który został wykorzystany do oceny zdolności badanego antyoksydantu do przeciwdziałania reakcji utleniania, jest % inhibicji.

Tabela 4 Porównanie zdolności antyoksydacyjnej kurkuminy i dioctanu kurkuminy

Badany roztwór, stężenie badanego związku w DPPH □ mol/dm ³	Średnia wartość absorbancji po 10 minutach od zainicjowania reakcji	[% inhibicji]
Kurkumina, 153	0,603	34,03
Kurkumina, 301	0,390	57,33
Kurkumina, 586	0,251	72,54
Dioctan kurkuminy, 139	0,901	1,42
Dioctan Kurkuminy, 275	0,877	4,05
Dioctan Kurkuminy, 536	0,841	7,98

Źródło: Opracowanie własne.

Dyskusja

W porównaniu z widmem FTIR kurkuminy (Rysunek 3), na widmie produktu uzyskanego we wcześniej opisanym procesie syntezy (Rysunek 4), nie ma pasm pochodzących od drgań rozciągających w regionie wskazującym na obecność grup hydroksylowych. Ponadto silne pasmo przy 1752 cm^{-1} , wskazuje na obecność grupy karbonylowej, co pozwala stwierdzić, że otrzymaną strukturą może być ester a tym samym dioctan kurkuminy.

Uzyskane wyniki dotyczące aktywności przeciwutleniającej zamieszczone w tabeli 1 pokazują, że wraz ze wzrostem stężenia badanych związków, rośnie zdolność badanego

antyoksydantu do przeciwdziałania reakcji utleniania. Ponadto roztwory kurkuminy wykazują znacznie lepsze zdolności antyoksydacyjne w porównaniu z roztworami dioctanu kurkuminy. Wyniki te pokazują, że grupy OH, obecne w cząsteczce kurkuminy, są odpowiedzialne za jej właściwości przeciwutleniające. Dioctan kurkuminy to ester, który w swojej budowie nie posiada grup OH, stąd niewielka aktywność antyoksydacyjna tego związku.

Podsumowanie

W wyniku syntezy otrzymano dioctan kurkuminy, co potwierdzają przeprowadzone analizy (temperatura topnienia, widmo FT-IR). Przeprowadzone badania właściwości przeciwutleniających pokazują znakomite właściwości przeciwutleniające kurkuminy. Właściwości przeciwutleniające dioctanu kurkuminy są nieznaczne w porównaniu z właściwościami antyoksydacyjnymi kurkuminy. Stąd wniosek, że kurkumina może być wykorzystany w leczeniu wielu chorób związanych ze stresem oksydacyjnym, a zainteresowanie badaczy tym związkiem jest uzasadnione.

Chociaż dioctan kurkuminy nie ma potencjału jako przeciwutleniacz, zapewne może być wykorzystany jako substrat do syntez, w których produkty mogą wykazywać lepsze właściwości w porównaniu z kurkumina, czy dioctanem kurkuminy. Kurkumina i jej pochodne, dzięki swym unikalnym właściwościom, są niewątpliwie interesującym materiałem do badań.

Literatura

- Anand P., Kunnumakkara A.B., Newman R.A., Aggarwal B.B. 2007. *Bioavailability of curcumin: problems and promises*. Mol. Pharm., 4: 807-818.
- Banerjee R. 2014. *Inhibitory Effect of Curcumin-Cu (II) and Curcumin-Zn(II) Complexes on Amyloid-Beta Peptide Fibrillation*. Bioinorg. Chem. Appl., 2014:1-8.
- Brand-Wiliamsa W., Cuvelier M.E., Berset C. 1995. *Use of a Free Radical Method to Evaluate Antioxidant Activity*. Lebenson Wiss Technol., 28:25-30.
- Deptuła T. 2016. *Wpływ podstawników polieterowych na aktywność biologiczną kurkuminy*. Praca doktorska, Uniwersytet Warszawski, Warszawa.
- Deptuła T., Gruber B., Krówczyński A. 2014. *Kurkumina i jej pochodne – zastosowanie w terapii przeciwnowotworowej i chemoprewencyjnej*. Post. Fitoter., 3: 155-165.
- Grajek W. 2007. *Przeciwutleniacze w żywności. Aspekty zdrowotne, technologiczne, molekularne i analityczne*. WNT, Warszawa.
- Igielska-Kalwat J., Gościńska J., Nowak I. 2015. *Karotenoidy jako naturalne antyoksydanty*. Postepy Hig. Med. Dosw., 69: 418-428.

- Jithan A., Madhavi K., Madhavi M., Prabhakar K. 2011. *Preparation and characterization of albumin nanoparticles encapsulating curcumin intended for the treatment of breast cancer*. Int. J. Pharm. Investig., 1: 119-125.
- Joe B., Vijaykumar M., Lokesh B.R. 2004. *Biological properties of curcumin-cellular and molecular mechanisms of action*. Crit. Rev. Food Sci., Nutr., 44: 97-111.
- Kozłowska K., Jeruszka-Bielak M., Piwowarczyk L., Brzozowska A. 2012. *Niedozwolone stosowanie barwników w żywności na rynku europejskim w latach 2005-2010 na podstawie raportów RASF*. Bromat. Chem. Toksykol., 4: 1157-1165.
- Liu B., Xia M., Ji X., Xu L., Dong J. 2013. *Synthesis and Antiproliferative Effect of Novel Curcumin Analogues*. Chem. Pharm. Bull. 61: 757-763.
- Moise A.R., Al-Babili S., Wurtzel E.T. 2014. *Mechanistic aspects of carotenoid biosynthesis*. Chem. Rev., 114:164-93.
- Murugan P., Pari L. 2006. *Antioxidant effect of tetrahydrocurcumin in streptozotocin–nicotinamide induced diabetic rats*, Life Sciences, 79: 1720–1728.
- Ravindran P.N., Nirmal-Babu K., Kandaswamy S. 2007. *Turmeric – The Golden Spice of Life. Turmeric: The genus Curcuma*. CRC Press, Boca Raton 1-14.
- Shishodia S., Chaturvedi M.M., Aggarwal B.B. 2007. *Role of Curcumin in Cancer Therapy*. Curr. Prob. Cancer., 31: 243-305.
- Sikora-Polaczek M., Bielak-Żmijewska A., Sikora E. 2011. *Molekularne i komórkowe mechanizmy działania kurkuminy - dobroczynny wpływ na organizm*. Post. Bioch. 57: 74-84.

Ekstrakcja kurkuminy z kłączy ostryżu długiego (*Curcuma longa* L.)

Separation of curcuminoids from Turmeric (*Curcuma longa* L.)

Łukasz Sałaciński

Zachodniopomorski Uniwersytet Technologiczny w Szczecinie
Wydział Technologii i Inżynierii Chemicznej
Doktoranckie Koło Naukowe „Zielona Chemia”
Opiekun: dr hab. inż. Robert Pełech

Abstract

In recent years, modern science and medicine have become interested in curcumin, a substance isolated from the rhizomes of Turmeric (*Curcuma longa* L.) due to its properties. It is distinguished by multidirectional biological activity and potential use in the treatment of many diseases, such as: atherosclerosis, cancer and Alzheimer's disease. Unfortunately, effective use of curcumin is difficult. The biggest problem is the low bioavailability of this polyphenol, which forces scientists to synthesize new curcumin derivatives that could be used in medicine.

Curcuminoids are obtained mainly as a result of Knoevenagel's synthetic condensation or by extractions of *Curcuma* plants. Both methods do not give satisfactory results: isolation and separation of curcuminoids poses a lot of difficulties due to their similar polarity, while synthesis is inefficient. The content of curcuminoids in the raw material is from 5 to 10% of dry matter and the extract contains a mixture of curcumin derivatives - 77% curcumin, 17% demethoxycurmarin and 3% bis-thymoxycurmarin.

Keywords: turmeric, *Curcuma longa*, curcumin, separation

Wstęp

Kurkumina jest związkiem organicznym, pochodzenia naturalnego, otrzymywanym z kłącza ostryżu długiego (*Curcuma longa* L.), rośliny występującej naturalnie w krajach tropikalnych (Ravindran 2007). Największymi światowymi producentami roślin z rodziny *Curcuma* są Indie oraz Chiny, będącymi krajami, w których roślina ta jest ważnym towarem eksportowym. Korzeń kurkumy jest stosowany na całym świecie w kuchni azjatyckiej dla nadania żywności charakterystycznego smaku, zapachu oraz barwy.

Kłącze kurkumy jest bogatym źródłem energii, 100g tej rośliny dostarcza organizmowi 390 kcal energii. Charakteryzuje ją wysoka zawartość skrobi (około 70%) oraz obecność wielu składników mineralnych i witamin, w tym wapnia, żelaza, potasu, sodu oraz ryboflawiny, niacyny, tiaminy czy kwasu askorbinowego. Walory smakowe oraz zapachowe kurkumina

zawdzięcza obecności licznych terpenów, takich jak α -turmeron, β -turmeron, eucaliptol oraz wiele innych (Tainter i Grenis 2001).

Kurkuma jest stosowana od tysięcy lat w medycynie naturalnej krajów dalekiego wschodu. Już 5000 lat temu jej właściwości lecznicze doceniano w leczeniu różnych dolegliwości. Obecność kurkuminy w organizmie ludzkim pozwala zahamować rozwój wielu chorób (Lal 2012). Związane jest to z jej silnymi właściwościami antyoksydacyjnymi porównywalnymi z działaniem witaminy C i E. Spożycie kurkumy pozwala zneutralizować aktywne formy tlenu znajdujące się w komórkach, w tym rodnik hydroksylowy czy rodnik ponadtlenkowy. Badania przeprowadzone na szczurach dowiodły, że kurkumina chroni tłuszcze przed uszkodzeniem oksydacyjnym katalizowanym przez jony miedzi oraz zapobiega spadkowi zawartości wielonasyconych kwasów tłuszczowych w utlenionych formach LDL. Ważną cechą kurkuminy jest też jej działanie neuroprotektoryjne, wykorzystywane w leczeniu oraz zapobieganiu chorobie Alzheimera. Ze względu na swoje właściwości, kurkumina stosowana jest także w chemoprewencji nowotworów, które są nazywane chorobą XXI wieku. Kurkumina działa dwojako w hamowaniu rozwoju nowotworu. Po pierwsze, stosowana jest jako związek wstrzymujący proliferację komórek nowotworu podczas promocji i progresji karcynogenezy. Po drugie zaś hamuje etap inicjacji poprzez inhibicję aktywacji kancerogenów (Szczepański i Grzanka 2009).

Kurkumina zawarta w kurkumie, jest szeroko stosowanym w przemyśle spożywczym barwnikiem naturalnym. Barwi ona żywność na bardzo silną żółto-pomarańczową barwę, a jej niewielki dodatek w różnych produktach, pozwala na łatwiejszą organoleptyczną akceptację wyrobu przez konsumenta. Kurkumina jest barwnikiem zaliczanym do grupy polifenoli o nazwie systematycznej [(1E,6E)-1,7-bis(4-hydroksy-3-metoksyfenyl)-1,6-heptadien-3,5-dion]. Wyizolowany z materiału roślinnego po raz pierwszy w 1815 roku, niespełna sto lat później, w roku 1910, strukturę przestrzenną tego związku ustalili polscy chemicy. Podstawą struktury jest szkielet feruloilometanowy, a obecność dwóch grup ketonowych na łańcuchu węglowym łączącym pierścienie aromatyczne, skutkuje występowaniem dwóch postaci tautomerycznych: ketonowej oraz enolowej (Aggarwal i in. 2007).

Najbardziej aktywnymi substancjami występującymi w kurkumie, są związki polifenolowe zwane kurkuminoidami. Stanowią one od 5 do maksymalnie 10% suchej masy roślinnej. W skład związków aktywnych biologicznie oraz chemicznie wchodzi kurkumina, demetoksykurkumina, bisdemetoksykurkumina oraz cyklokurkumina. Ze wszystkich wymienionych związków, najbardziej pożądanym jest kurkumina. Kurkuminoidy otrzymuje

się poprzez ekstrakcję roślin z rodzaju *Curcuma* lub na drodze syntetycznej. Popularną metodą otrzymywania syntetycznej kurkuminy, jest reakcja Knoevenagla. Jest ona stosowana do tworzenia wiązania węgiel-węgiel pomiędzy związkami karbonylowymi (aldehydami lub ketonami) a związkami z aktywną grupą metylenową. Proces ten jest kluczowym etapem wieloetapowych syntez związków biologicznie aktywnych, które są stosowane w medycynie, w tym kurkuminy. Otrzymywanie kurkuminoidów na drodze syntezy organicznej, nie jest jednak stosowane na szeroką skalę. Spowodowane jest to niską wydajnością procesu oraz zbyt wysokimi kosztami w porównaniu z metodami ekstrakcyjnymi.

Drugą drogą otrzymywania kurkuminoidów z surowca roślinnego, są metody ekstrakcyjne. Ze względu na bardzo słabą rozpuszczalność kurkumy oraz jej analogów w wodzie, rozpuszczalnikami stosowanymi w ekstrakcji kłącza kurkumy są niskowrzące związki organiczne takie jak aceton, chloroform, metanol, etanol czy octan etylu. Konieczność stosowania rozpuszczalników o niskiej temperaturze wrzenia, podyktowana jest niestabilnością kurkuminy i jej pochodnych. W zbyt wysokiej temperaturze a także pod wpływem alkalicznego środowiska lub promieniowania UV, ulega szybkiej degradacji. Rozpada się ona na szereg związków organicznych: trans-6-(4'-hydroksy-3'-metoksyfenylo)-2,4-diokso-5-heksanol, wanilinę, kwas ferulowy, bicyklopentadion, aldehyd ferulowy oraz ferulometan (Wang i in. 1997).

Ekstrakcja jest bardzo prostą oraz wygodną metodą, pozwalającą na szybkie i proste otrzymywanie kurkuminoidów z surowca roślinnego. Niestety, po otrzymaniu i oczyszczeniu ekstraktu, pojawia się problem polegający na rozdzieleniu mieszaniny składającej się z kurkuminy (70-75%), demetoksykurkuminy (15-20%) oraz bisdemetoksykurkuminy (3-8%). Trudność związana z rozdzieleniem i izolacją wynika przede wszystkim z bardzo zbliżonej polarności tych związków. Polarność spowodowana jest niemal identyczną budową kurkuminoidów. Problem z rozdzieleniem jest obecnie najbardziej znaczącym etapem otrzymywania kurkuminy z kłącza kurkumy.

Cel i materiały

Przeprowadzono badania nad wpływem rozpuszczalników na ekstrakcję kurkuminoidów ze świeżego materiału roślinnego, które następnie rozdzielono za pomocą chromatografii cienkowarstwowej (TLC), chromatografii kolumnowej (CC) oraz wysokosprawnej chromatografii cieczowej (HPLC).

Korzeń kurkumy zakupiony został w firmie NatVita, kraj pochodzenia materiału roślinnego - Indie. Wszystkie stosowane rozpuszczalniki, o czystości cz.d.a. (czysty do analizy), nabyto od firmy Chempur. Żele krzemiankowe oraz płytki stosowane w chromatografii cienkowarstwowej, zakupiono w firmie Sigma Aldrich (Merck).

Wyniki

Świeże korzenie kurkumy zostały oczyszczone, umyte za pomocą wody dejonizowanej, a następnie pocięte na 5-centymetrowe kawałki. Otrzymany materiał był suszony w suszarce w temperaturze 50°C przez 12 godzin w celu pozbycia się wody z materiału roślinnego. Po tym czasie, pocięty korzeń kurkumy, został zmielony za pomocą młynka elektrycznego na proszek. 10 g zmielonego korzenia kurkumy umieszczono w aparacie Soxhleta zaopatrzonym w kolbę okrągłodenną o pojemności 250 ml, do której wiano 150 ml rozpuszczalnika. Ekstrakcję prowadzono 8 h. Po jej zakończeniu otrzymano ciemnobrązowy ekstrakt, z którego odparowano nadmiar rozpuszczalnika za pomocą wyparki próżniowej. Zagęszczony ekstrakt pozostawiono do odparowania pozostałości rozpuszczalnika otrzymując ciemnopomarańczowy proszek.

W celu znalezienia optymalnego rozpuszczalnika, porównano ze sobą ilość otrzymanego suchego ekstraktu kurkuminoidów. Zbadano pięć łatwo dostępnych oraz tanich rozpuszczalników (aceton, metanol, etanole chloroform oraz octan etylu) i dla wszystkich obliczono procentową zawartość kurkuminy oraz jej pochodnych w ekstrakcie. Rozpuszczalniki zostały wybrane nie tylko ze względu na łatwą dostępność, ale także przez ich stosunkowo niską temperaturę wrzenia. Z literatury wynika, że kurkuminoidy rozkładają się pod wpływem podwyższonej temperatury (Griesser i in. 2011). Zależność ilości otrzymanego ekstraktu od rodzaju zastosowanego rozpuszczalnika, przedstawiono w tabeli 1.

Tabela 1. Wpływ rozpuszczalnika na ekstrakcję kurkuminoidów

Rozpuszczalnik	Temperatura wrzenia [°C]	Masa ekstraktu [g]
Aceton	56	0,47
Chloroform	61	0,43
Metanol	65	0,58
Etanol	78	0,5
Octan etylu	77	0,44

Źródło: Opracowanie własne.

Z danych literaturowych wynika, że zawartość kurkuminy oraz jej analogów w świeżym korzeniu roślin z rodziny *Curkuma*, powinna wynosić od 5 do 10% (Tayyem i in. 2006). Zawartość kurkuminoidów w otrzymanych ekstraktach wynosiła od 4,3% dla chloroformu do 5,8% dla metanolu. Prawdopodobnie jest to związane z datą zbiorów badanego materiału, który został zebrany na początku roku 2018 lub należałoby ekstrakcję przedłużyć o kolejne 4 godziny. Optymalnie zastosowanym rozpuszczalnikiem okazał się metanol, dla którego udało się uzyskać około 0,6 g kurkuminoidów z 10 g zmielonego korzenia.

Przeprowadzono serię doświadczeń wykorzystujących chromatografię cienkowsarstwową TLC, mających na celu znalezienie odpowiedniego układu rozpuszczalników. pozwalających na jak najlepsze rozdzielenie kurkuminy oraz jej analogów. Za pomocą kapilary naniesiono na płytkę TLC analizowaną próbkę mieszaniny kurkuminoidów rozpuszczonych w acetonie, a następnie rozwijano chromatogram w komorze chromatograficznej. Skład fazy ruchomej optymalizowano poprzez stosowanie różne układy rozpuszczalników o różnej polarności. Chromatogram wywołano promieniowaniem UV.

Za pomocą chromatografii cienkowsarstwowej TLC zbadano kilka układów rozpuszczalników w celu znalezienia optymalnego składu fazy ruchomej dla rozdziału kurkuminoidów. Zbadanymi układami były: chloroform:etanol, dichlorometan:etanol, chloroform:metanol, dichlorometan:metanol, chloroform:aceton oraz dichlorometan:aceton. Dla każdego układu zachowano ten sam stosunek rozpuszczalnika niepolarnego do polarnego, który wynosił 10:1. We wszystkich mieszaninach rozpuszczalników udało się uzyskać trzy różne punkty na płytce chromatograficznej. Najmniej skutecznym układem rozpuszczalników w rozdziale mieszaniny kurkuminoidów, okazała się mieszanina dichlorometan:aceton, dla której kurkumina oraz jej analogi rozdzieliły się dopiero na samym szczycie płytki. Natomiast faza ruchoma, składająca się z chloroformu i metanolu, pozwoliła na najlepsze rozdzielenie kurkuminy, demetoksykurkuminy oraz bisdemetoksykurkuminy. Układ ten został wybrany do rozdziału mieszaniny kurkuminoidów za pomocą chromatografii kolumnowej.

Próbkę suchego ekstraktu z korzenia kurkumy rozpuszczono w metanolu. Otrzymany roztwór następnie przefiltrowano przez filtr strzykawkowy, żeby uniknąć zanieczyszczenia fazy stacjonarnej osadem. Chromatografia adsorpcyjna przeprowadzona została w kolumnie szklanej ze spiekami o wymiarach 70x1,2 cm, wypełnionej żelami krzemiankowymi. Przeprowadzono trzy rozdziały metanolowego ekstraktu kurkuminy na kolumnach wypełnionych trzema różnymi żelami krzemiankowymi, różniącymi się między sobą

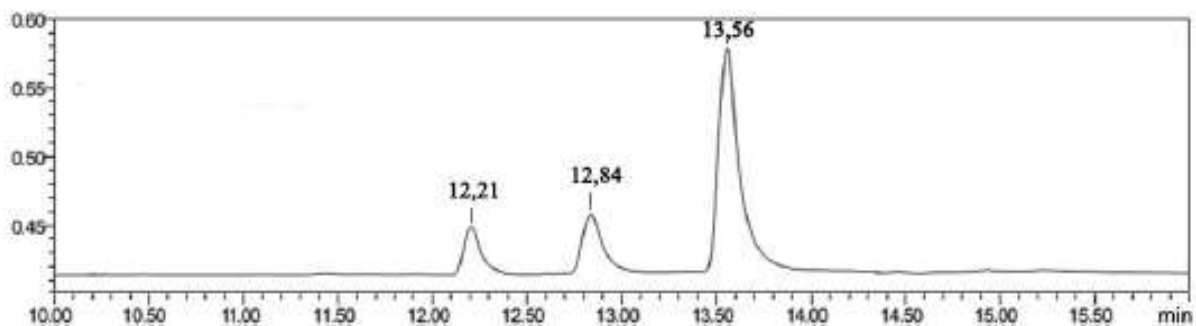
wielkością ziarna: żel A o wielkości ziarna 80-100 mesh, B o wielkości ziarna 100-200 mesh oraz wypełnienie C o wielkości ziarna 200-300 mesh. Na szczyt każdej kolumny zadano 1 ml badanego roztworu, a następnie zaczęto zbierać próbki o tej samej objętości. Odebrane frakcje następnie zbadano w celu określenia zawartości kurkuminy, demetoksykurkuminy oraz bisdemetoksykurkuminy w każdej z nich.

W przeprowadzonych badaniach, wykorzystano trzy wypełnienia różniące się między sobą wielkością ziarna - żele krzemionkowe. Na każdą z kolumn dodano tą samą ilość ekstraktu metanolowego, który następnie rozdzielono. Podczas każdego rozdziału pobierano frakcje o objętości 10 ml aż do momentu, gdy z kolumny zaczęto odbierać czystą fazę ruchomą. Z otrzymanej frakcji odparowano rozpuszczalniki a suchą pozostałość zbadano za pomocą chromatografii cienkowarstwowej (TLC) w celu określenia ilości składników w próbce. Zebrane frakcje następnie połączono w pięć grup. Trzy z nich składały się z rozdzielonych związków: kurkuminy, demetoksykurkuminy oraz bisdemetoksykurkuminy. Dwie pozostałe to międzyfrakcje, zawierające mieszaninę kurkuminy i demetoksykurkuminy oraz demetoksykurkuminy i bisdemetoksykurkuminy.

Porównując ze sobą ilość otrzymanych frakcji z kolumn o różnych wypełnieniach, a co za tym idzie czas prowadzenia rozdziału, optymalnym wypełnieniem zastosowanym okazało się wypełnienie C, o wielkości ziarna 200-300 mesh. Ilość odebranych frakcji dla pozostałych wypełnień była większa o 17 oraz 9 dla odpowiednio żelów krzemiankowych A i B. Ilość otrzymanej oczyszczonej kurkuminy w trakcie jednego rozdziału, to około 50 mg. Jednocześnie uzyskuje się o połowę mniej demetoksykurkuminy oraz trzykrotnie mniej bisdemetoksykurkuminy, co jest zgodne z danymi literaturowymi (Jayaprakasha i Sakariah 2002).

Wszystkie frakcje otrzymane po chromatografii kolumnowej oraz mieszanina kurkuminoidów, zostały przebadane za pomocą wysokosprawnej chromatografii cieczowej (HPLC) na aparacie Nexera-i LC-2040C Plus firmy Shimadzu. Układ chromatograficzny składał się z odgazowywacza, pompy, autosamplera, kolumny oraz detektora. Elucja kurkuminoidów przeprowadzana była w gradiencie fazy ruchomej składającej się z 2 mmol wodnego roztworu kwasu fosforowego (I) oraz acetonitrylu (II) o przepływie 0,65 cm³/min na kolumnie Kinetex 2,6 μm XB-C18. Podczas badań zastosowano zmienny gradient stężeń: od 70 do 50% roztworu I od 0 do 5 min, od 50 do 25% od 5 do 10 min, od 25 do 15% od 10 do 20 min, od 15 do 5% od 20 do 30 min.

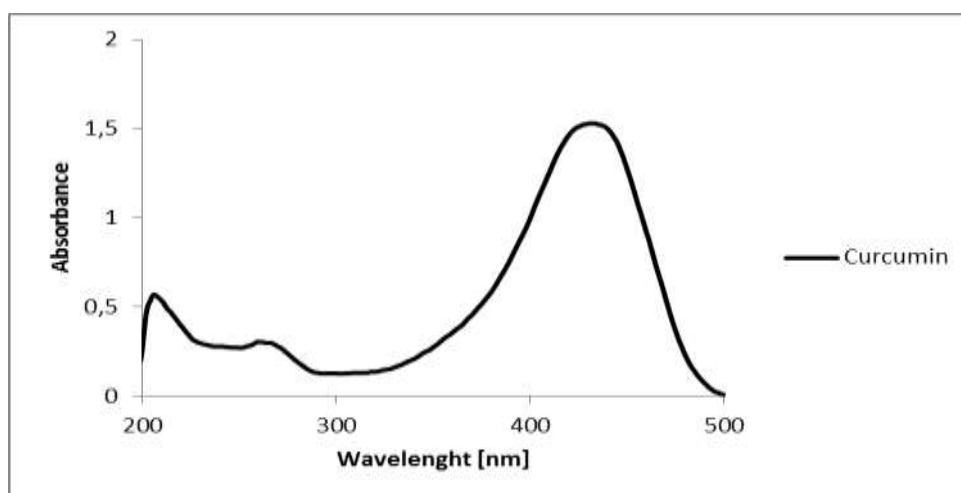
Rysunek 1. Chromatogram HPLC mieszaniny kurkuminoidów otrzymanej po ekstrakcji etanolem



Źródło: Opracowanie własne.

Na rysunku 1 przedstawiono fragment chromatogramu metanolowego ekstraktu mieszaniny kurkuminoidów, otrzymany po ekstrakcji korzenia kurkumy. Wybrane parametry pomiaru, pozwoliły na bezproblemowy rozdział oraz zidentyfikowanie związków zawartych w wybranej próbce. Chromatogram przedstawia trzy pojedyncze piki o czasach retencji 12,21, 12,84 oraz 13,56 min, odpowiadające kolejno bisdemetoksykurkuminie, demetoksykurkuminie oraz kurkuminie. Wykorzystane warunki zostały następnie wykorzystane do sprawdzenia czystości frakcji, otrzymanych podczas rozdziału ekstraktu kurkuminoidów, za pomocą chromatografii kolumnowej. Próbkki zostały poddane analizie metodą spektroskopii UV-VIS oraz wyznaczono ich temperatury topnienia. Widmo UV-Vis wydodrębnionych związków, wykonano przy użyciu aparatu Spectroquant Pharo 300 Spectrophotometer firmy Merck. Położenia pasm absorpcji kurkuminy oraz jego analogów, zarejestrowano w roztworze metanolu.

Rysunek 2. Widmo UV-VIS kurkuminy



Źródło: Opracowanie własne.

Kurkumina, w roztworze metanolu, pokazała charakterystyczne, szerokie pasmo absorpcji od 300 do 500 nm z maksimum absorpcji wiązania π - π^* dla około 420 nm, co jest zgodne z danymi literaturowym. Na rysunku 2 widoczne jest także słabe pasmo absorpcji od 200 do 280 nm. Obecność polarnego rozpuszczalnika, jakim jest metanol, powoduje interakcję pomiędzy nim a polarną kurkumina, która stabilizuje stan wzbudzony π^* . Zarówno kurkumina, jak i jej analogi: demetoksykurkumina oraz bisdemetoksykurkumina, wykazują maksima absorpcji w punkcie 420 nm a dodatkowo wszystkie te związki posiadają także słabe pasma absorpcji od 200 do 300 nm. Wynika to z niemalże identycznej budowy kurkuminoidów, co sprawia trudności w ich odróżnieniu za pomocą spektroskopii UV-VIS.

Pomiaru dokonano za pomocą automatycznego systemu pomiaru temperatury topnienia OptiMelt MPA 100 (SRS – *Stanford Research System*) wyposażonego w wbudowany czujnik temperatury Pt RTD oraz kontroler temperatury typu PID ze sprzężeniem zwrotnym. Parametry pomiaru były następujące: szybkość grzania 5°C/min, zakres 25-400°C, dokładność pomiaru 0,3°C.

Tabela 5. Temperatura topnienia kurkumy i jej analogów

Związek chemiczny	Temperatura topnienia [°C]	Dane literaturowe [°C]
Kurkumina	181-183	183
Demetoksykurkumina	170-172	168
Bisdemetoksykurkumina	220-222	222

Źródło: Opracowanie własne.

Badanie temperatury topnienia przeprowadzono zgodnie z opisem umieszczonym powyżej, a wyniki pomiarów przedstawiono w tabeli 2. Temperatury topnienia zostały wyznaczone dla kurkuminy oraz jej analogów, będących ciałami stałymi. Otrzymane wartości temperatur topnienia porównano z dostępnymi danymi literaturowymi (Pavolini T. 1937).

Dyskusja

Przeprowadzono badania nad rozdziałem ekstraktu kurkuminoidów otrzymanego za pomocą ekstrakcji korzenia kurkumy (*Curcuma longa L.*) za pomocą etanolu. W badaniach wykorzystano pięć rozpuszczalników: aceton, metanol, etanol, chloroform oraz octan etylu, spośród których wykorzystanie metanolu, pozwoliło na otrzymanie największej ilości

kurkuminoidów z materiału roślinnego. Uzyskano 0,58 g kurkuminoidów z 10 g wysuszonego materiału roślinnego. Na podstawie analizy HPLC stwierdzono, że mieszanina zawiera kurkuminę, demetoksykurkuminę oraz bisdemetoksykurkuminę.

Wykorzystując chromatografię cienkowarstwową, określono optymalny skład fazy ruchomej wykorzystanej później do rozdzielania mieszaniny w chromatografii kolumnowej. Badaniu poddano sześć układów rozpuszczalników: chloroform:etanol, dichlorometan:etanol, chloroform:metanol, dichlorometan:metanol, chloroform:aceton oraz dichlorometan:aceton, o stałym stosunku związku niepolarnego do polarnego 10:1. Stwierdzono, że układ chloroform:metanol pozwala na najlepszy rozdział kurkuminy i jej analogów.

Podczas badań rozdzielania kurkuminoidów, za pomocą chromatografii kolumnowej, porównano ze sobą wyniki uzyskane dla trzech żeli krzemiankowych o różnych wielkościach ziarna: 80-100, 100-200 oraz 200-300 mesh. Stwierdzono, że zastosowanie wypełnienia o najmniejszych ziarnach, zmniejsza maksymalną ilość odebranych frakcji podczas rozdzielania, a co za tym idzie, pozwala na zmniejszenie wymaganej ilości fazy ruchomej wykorzystywanej do pełnego rozdzielania badanej próbki.

Za pomocą wysokosprawnej chromatografii cieczowej zbadano skład frakcji odebranych podczas chromatografii kolumnowej. Porównanie czasów retencji pozwoliło na identyfikację związków zawartych w poszczególnych próbkach oraz potwierdziło rozdział przeprowadzony w poprzednim etapie badań.

Przeprowadzono dodatkowe badania w celu potwierdzenia otrzymania kurkuminy, demetoksykurkuminy oraz bisdemetoksykurkuminy w poszczególnych frakcjach. Wykorzystano do tego celu spektroskopię UV-VIS oraz wyznaczono temperatury topnienia otrzymanych związków. Spektroskopia UV-VIS potwierdziła obecność charakterystycznych dla kurkuminoidów pasm o długości 420 nm. Wyznaczone temperatury topnienia wyodrębnionych kurkumin, są zgodne z danymi literaturowymi.

Podsumowanie

Najwyższą wydajność ekstrakcji kurkumin z korzenia ostryżu długiego uzyskano przy użyciu metanolu jako ekstrahentu. Uzyskanie kurkumin z korzenia podczas ekstrakcji metanolem, wynosi około 6%. Ekstrakt stanowi mieszanina kurkuminy, demetoksykurkuminy oraz bisdemetoksykurkuminy w stosunku masowym 1:0,5:0,33. Rozdział poszczególnych składników można przeprowadzić z wysoką sprawnością metodą chromatografii kolumnowej

na żelu krzemionkowym 200-300 mesh. Optymalnym składem eluatu oznaczonego metodą chromatografii cienkowarstwowej, jest CHCl₃:CH₃OH 10:1.

Literatura

- Aggarwal B.B., Sundaram C., Malani N., Ichikawa H. 2007. *Curcumin. The Indian solid gold*. Adv. Exp. Med. Biol., 595: 1 - 75.
- Griesser, M., Pistis V., Suzuki T., Tejera N., Pratt D. A., Schneider C. 2011. *Autoxidative and cyclooxygenase-2 catalyzed transformation of the dietary chemopreventive agent curcumin*. J. Biol. Chem., 286: 1114–1124.
- Jayaprakasha G. K., Sakariah K. K. J. 2002. *Agric. Food Chem.* 50: 3668–3672.
- Lal. J. 2012. *Turmeric, curcumin and our life: a review*. Bull. Environ. Pharmacol. Life Sci., 1: 11-17.
- M.A. Szczepański, A. Grzanka. 2009. *Chemoprewencyjne i przeciwnowotworowe właściwości kurkuminy*. NOWOTWORY Journal of Oncology, 59: 377–384.
- Pavolini T. 1937. *Riv. Ital. Esseze*. 19: 167.
- Ravindran P.N., 2007. *Turmeric: The genus Curcuma*. CRC PRESS, London.
- Tainter D.R., Grenis A.T. 2001. *A Food Technology Handbook. 2nd Ed.* Wiley-VCH, New York.
- Tayyem R. F., Heath D. D. Al.-Delaimy W. K. Rock C. L. 2006. *Curcumin Content of Turmeric and Curry Powders*. Nutrition and Cancer. 55: 126-131.
- Wang Y. J., Pan M. H., Cheng Al. 1997. *Stability of curcumin in buffer solutions and characterization of its degradation products*. J. Pharm. Biomed. Anal., 15: 1867-1876.

Edukacja rodzin w zakresie żywienia

Education in the family in the field of nutrition

Magdalena Jaśkiewicz

Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie
Wydział Nauki o Żywności
Studenckie Koło Naukowe Towaroznawczej Oceny Sensorycznej
Opiekun: dr inż. Anna Gątorska

Abstract

Monthly meat consumption in Poland more than twice exceeds the norm recommended by the World Health Organization. Data from the Central Statistical Office show that the average monthly meat consumption per capita in recent years is at the level of 5.3 kg. The World Health Organization recommends a weekly meat consumption of no more than 0.5 kg per person, ie about 2-2.5 kg per month. The quoted data point to a problem in Polish society that concerns an incorrect diet. However, is this problem only in the mentality of Poles? Can Poles lack education in the field of nutritional hygiene? This situation requires the intervention of conscious people, because a proper diet can significantly affect the quality of life of Poles.

The aim of the work is to analyze the family education channels in terms of dietary hygiene, with particular emphasis on the Internet channel. The National Center for Nutritional Education is a reliable source of information, because the information there is provided by qualified, competent scientists who publish the latest scientific achievements. Information on food, nutrition, health and other topics on the site is provided in plain and understandable language. The variety of media forms allows people to acquire knowledge about different ways of learning. All this means that the website of the National Center for Nutritional Education may be an effective channel for gaining knowledge by Poles.

Keywords: education, family, nourishment.

Wstęp

Rodzina jest miejscem, gdzie młody człowiek wykształca system wartości, norm i zachowań. Młodzi ludzie właśnie w rodzinie uczą się funkcjonowania w świecie, nabywają umiejętności dbania o zdrowie. Na rodzinę można spojrzeć jako na system elementów wzajemnie ze sobą powiązanych. Dzięki temu można wyraźnie dostrzec rysujące się współzależności i wzajemny wpływ poszczególnych członków rodziny na rozwój i funkcjonowanie wszystkich jej członków. Naukowcy badający rodzinę, zwracają uwagę na potencjał edukacyjny, który w niej tkwi. Możliwości, które ta komórka społeczna posiada, mogą według nich zaważyć na procesy uczenia się jednostek i strategie wykorzystywania kapitału rodziny w procesach uczenia się jej członków. Coraz większe wymagania dotyczące

dzisiejszego stylu życia sprawiają, że stawiane są coraz szczegółowsze pytania, dotyczące zdrowego sposobu odżywiania, właściwości odżywczych spożywanych posiłków (Przybylska 2018). Jednak miesięczne spożycie mięsa w Polsce, ponad dwukrotnie przekracza normę zalecaną przez Światową Organizację Zdrowia. Z danych Głównego Urzędu Statystycznego (2017) wynika, że przeciętne miesięczne spożycie mięsa na osobę w ostatnich latach, kształtuje się na poziomie 5,3 kg. Światowa Organizacja Zdrowia zaleca tygodniowe spożycie mięsa nie większe niż 0,5 kg na osobę, czyli miesięcznie około 2-2,5 kg. Przytoczone dane wskazują na występujący w polskim społeczeństwie problem, który dotyczy nieprawidłowego sposobu odżywiania. Czy jednak problem ten tkwi jedynie w mentalności Polaków? Czy może Polakom brakuje edukacji w zakresie racjonalnego żywienia? Sytuacja ta wymaga zaangażowania specjalistów, gdyż prawidłowy sposób odżywiania, może znacząco wpłynąć na jakość życia Polaków.

Cel pracy

Celem pracy była analiza kanałów edukacji rodziny pod względem higieny żywieniowej ze szczególnym uwzględnieniem kanału, jakim jest internet.

Znaczenie prawidłowego żywienia

Żywność i żywienie są najważniejszym czynnikiem decydującym o zachowaniu zdrowia i dobrego samopoczucia. Obecnie w wykazie jednostek chorobowych, około 80 pozycji stanowią choroby spowodowane nieprawidłowym odżywianiem (Jarosz 2017). Prawidłowo skomponowana dieta, uwzględnia wszystkie niezbędne składniki pokarmowe, które odżywiają organizm. Dobre, zbilansowane posiłki, znacząco wpływają na zdrowie człowieka i jego dobre samopoczucie. Duże urozmaicenie spożywanych pokarmów, dostarczanie organizmowi odpowiedniej ilości kalorii, zachowywanie prawidłowych proporcji między białkami, tłuszczami i węglowodanami, jest podstawą racjonalnej diety (Gil i in. 2009). Natomiast nieprawidłowy sposób odżywiania, ma wpływ na powstawanie chorób cywilizacyjnych tj.: nowotwory, osteoporoza, choroby jelita grubego, choroby sercowo-naczyniowe, udar mózgu, otyłość, schorzenia układu nerwowego. Wystąpienie tych chorób obniża jakość życia, powoduje dyskomfort psychiczny i fizyczny, wynikający z doświadczanego bólu, cierpienia i stwarzania dodatkowych problemów praktycznych, które są związane z ograniczeniem lub utratą sprawności (Markocka-Mączka i in. 2016). Ponadto odżywianie dzieci wpływa na ich rozwój, funkcjonowanie. Zbilansowana dieta u dzieci,

pomaga zmniejszyć ryzyko występowania chorób wieku dziecięcego oraz w późniejszych latach życia, rozwoju chorób dietozależnych (Charzewska i in. 2010). Udowodniono również, że wyłączenie karmienia piersią noworodka przez pierwsze 6 miesięcy życia, zapobiega powstawaniu wielu chorób żywieniowo zależnych tj. otyłość, nadciśnienie tętnicze, alergie, niedokrwienność serca i inna (Jarosz 2017). Odpowiednia dieta, bogata we wszystkie potrzebne organizmowi składniki odżywcze, przyczynia się do zmniejszenia problemu bezpłodności w społeczeństwie (Ostrowska i Karecka 2017). Prawidłowy sposób odżywiania, wpływa na osiągnięcie wysokich wyników w różnych dziedzinach wiedzy, w sporcie (Durkalec-Michalski i in. 2015), jak również daje siłę do rozwijania swoich zainteresowań, dzięki czemu społeczeństwo może cieszyć się zdrowiem i dobrym samopoczuciem (Contento 2018).

Edukacja rodzin - kanały informacji

Edukacja rodzin jest jedną z dziedzin instytucjonalnej edukacji dorosłych, dzieci, czasem również dziadków. W ostatnich latach obserwowany jest wzrost ilości warsztatów, kursów kierowanych do wszystkich członków rodziny. W koncepcję tych kursów wpisane jest sprośanie wymaganiom zarówno dorosłych, jak i najmłodszych członków rodziny (Przybylska 2018). Jednak nie jest to jedyne źródło pozyskiwania wiedzy. Bardzo popularnym źródłem informacji jest internet, który staje się dużo ważniejszy od telewizji. Cechą charakterystyczną tego kanału komunikacji jest to, że współlistnieje z innymi technikami telekomunikacji i teleinformacji. Każdy wynalazek służący do komunikowania i przetwarzania informacji, znajduje swoje zastosowanie w sieci (Ilciów 2008). Ponadto internet jest źródłem łatwo dostępnym i wygodnym dla użytkownika, gdyż nie wymaga wychodzenia z domu. Inną możliwością jednoczesnego przekazywania wiedzy szerokiemu gronu, jest telewizja. Z danych publikowanych przez Krajową Radę Radiofonii i Telewizji wynika, że statystycznie Polacy w 2017 roku poświęcili na oglądanie telewizji dziennie średnio 4 godziny i 18 minut, a około 95% gospodarstw domowych w Polsce posiada telewizję (Reisner 2018). Z badań Kubiak i Kuleczki-Raszewskiej (2014) wynika, że reklama telewizyjna ma znaczący wpływ na wybory dotyczące produktów tj. leki, środki do higieny i pielęgnacji ciała. Jednocześnie badania te wykazały, że konsumenci, którzy często oglądali reklamy produktów prozdrowotnych, dość rzadko wybierali te produkty w sklepie. Reklama niejednokrotnie nie jest skutecznym narzędziem propagowania zdrowego stylu życia (Kubiak i Kuleczka-Raszewska 2014). Różnorodne telewizyjne programy edukacyjne wydają się być skutecznym kanałem

przekazywania wiedzy Polakom, którzy dużo swojego wolnego czasu spędzają oglądając telewizję. Mało jest jednak programów edukujących dotyczących żywności i żywienia.

Kształcenie dorosłego pokolenia w zakresie higieny żywieniowej, przyczynia się zarówno do rozwoju osobistego jednostek, jak również wzbogacenia kultury całych rodzin, dlatego edukacja rodziców powinna mieć znaczące miejsce w polityce oświatowej i społecznej demokratycznego państwa (Przybylska 2018). Aby edukacja żywieniowa była skuteczna, należy pamiętać o podstawowych zasadach komunikowania się, ponieważ komunikacja stanowi centralny punkt w tym obszarze. Przeciętny nastolatek spędza od 3 do 7 godzin, komunikując się z innymi za pośrednictwem mediów społecznościowych. Na pojęcie komunikacji składają się cztery elementy: źródło, informacja, kanały i odbiorca. W kontekście edukacji żywieniowej źródłem jest edukator żywieniowy, informację stanowi np. jakieś zalecenie, kanały to np. wykłady, prezentacje, internet, a odbiorca to osoby, do których kierowane są dane informacje. Zadbanie o każdy z w/w elementów, sprzyja efektywnemu przekazywaniu wiedzy (Contento 2018).

Kwalifikacje edukatora żywieniowego

Dobry edukator żywieniowy powinien charakteryzować się posiadaniem odpowiednich kompetencji, a więc istotnych umiejętności, wiedzy i poglądów w danej dziedzinie, jak i wiarygodnością. Przedstawienie kwalifikacji zawodowych i doświadczenia, a także ciągłe doskonalenie w tak istotnej dziedzinie jak żywienie, buduje poczucie zaufania u odbiorców. Jest to związane z odczuciem, że dana osoba prezentuje informacje, za którymi nie stoją żadne ukryte motywy. Kolejną cechą jaką powinien posiadać dobry edukator żywieniowy, jest dynamizm i pasja. Efektywność przekazywania informacji jest zależna jeszcze od znalezienia wspólnej płaszczyzny porozumienia. Jest to umiejętność, która jest szczególnie ważna podczas warsztatów i zajęć, bezpośrednio prowadzonych z grupą. Ważna jest również kompetencja kulturowa, która jest szczególnie ważna podczas pracy z grupą wielokulturową. Kolejnym elementem, który jest istotny w przekazywaniu informacji jest sama informacja. Ważna w tym jest prostota informacji i przekazywanie jej w sposób minimalizujący liczbę elementów rozpraszających uwagę. Skuteczność edukacji żywieniowej zależy również od grupy odbiorców, od ich osobistej motywacji do uczenia się, umiejętności uczenia się, sytuacji życiowej, preferencji związanych ze stylem uczenia się oraz roli społecznych i cyklu życia. Naukowcy dowiedli, że informacje poznawcze, są filtrowane przez stany psychiczne (Contento 2018).

Rola instytucji rządowych i mediów w kształtowaniu świadomości żywieniowej

„Weź zdrowie w swoje ręce” to motto, dzięki któremu powstało Narodowe Centrum Edukacji Żywieniowej (NCEŻ). Baza informacji została opracowana dzięki doświadczeniu i wiedzy Instytutu Żywności i Żywienia im. prof. dra med. Aleksandra Szczygła (IŻŻ) oraz dzięki finansowaniu otrzymanemu w ramach szwajcarskiego programu współpracy z nowymi krajami członkowskimi Unii Europejskiej (Swiss Contribution) i współfinansowaniu z Ministerstwa Zdrowia. Obecnie program ten jest finansowany ze środków Narodowego Programu Zdrowia na lata 2016-2020. Instytut Żywności i Żywienia od ponad 50 lat wykonuje liczne zadania i projekty z zakresu zdrowia publicznego. IŻŻ jest odpowiedzialny za opracowywanie i publikowanie norm żywienia dla populacji polskiej. Jest wyposażony w profesjonalne zaplecze laboratoryjne. Stale współpracuje z instytucjami w kraju i za granicą, organizuje liczne konferencje naukowe. Jest wiarygodnym, niezależnym i obiektywnym źródłem informacji. Materiały umieszczane na stronie internetowej NCEŻ, przeznaczone są dla osób, które chcą poprawić stan swojego zdrowia i jakość życia. Dzięki temu każdy zainteresowany może mieć dostęp do dorobku naukowego w zakresie prawidłowego żywienia. Informacje zawarte na stronie powstają dzięki pracy całego sztabu ludzi, którzy znajdują się pod kierownictwem prof. dr hab. n. med. Mirosława Jarosza. Obecnie w skład tego zespołu wchodzi 12 profesorów (w tym 6 lekarzy), 3 doktorów nauk medycznych, 16 doktorów, 3 lekarzy medycyny, 27 magistrów inżynierów, 6 magistrów. Każdy z ekspertów jest osobą o udokumentowanych kompetencjach opisanych na stronie.

Strona internetowa Narodowego Centrum Edukacji Żywieniowej zawiera szczegółowe informacje na temat prawidłowego i zdrowego odżywiania. Informacje zawarte na stronie przekazywane są m.in. w postaci artykułów, ebooków, wideoporad, ikonografik, tabel, rysunków. Artykuły naukowe podzielone są na następujące grupy: ABC Żywienia, zdrowe odchudzanie, aktywność fizyczna, ciąża i macierzyństwo, dzieci i młodzież, seniorzy, choroba a dieta, żywienie w placówkach edukacyjnych, informacje dla producentów żywności. W zakładce „ABC Żywienia” występuje kolejne pogrupowanie: fakty i mity, zasady zdrowego odżywiania, co kryje etykieta, dietetyka sportowa, psychodietetyka. W każdej z tych grup znajdują się liczne artykuły na wiele tematów związanych ze zdrowiem, zdrowym stylem życia czy praktycznymi wskazówkami. W zakładce „Zdrowe odchudzanie” są następujące grupy: skuteczne odchudzanie, praktyczne porady, ruch i motywacja. W zakładce „Aktywność fizyczna”, występuje następujący podział: dzieci i młodzież, osoby dorosłe, seniorzy.

W zakładce „Cięża i macierzyństwo”: płodność i ciąża, karmienie, macierzyństwo. W zakładce „Dzieci i młodzież”: dzieci 0-3, dzieci przedszkolne i szkolne, młodzież. W zakładce „Seniorzy”: żywienie osób w starszym wieku, zmiany zachodzące w organizmie, sekret długowieczności. W zakładce „Choroba a dieta”: choroby układu krążenia, choroby układu pokarmowego, choroby tarczycy, cukrzyca i insulinooporność, nowotwory, alergie i nietolerancje pokarmowe, choroby neurodegeneracyjne, choroby układu kostno-stawowego, inne. W zakładce „Żywienie w placówkach edukacyjnych”, znajdują się: zasady zdrowego żywienia, żywienie w przedszkolach i szkołach, edukacja żywieniowa w praktyce. W zakładce „Informacje dla producentów żywności”: informacje ogólne, system HACCP. Ponadto, na stronie głównej, wyświetlone są najnowsze opublikowane informacje, które stanowią aktualności. Informacje, które znajdują się na stronie, są również licznie prezentowane w mediach: w internecie, telewizji, prasie i radio. Na stronie podany jest również kontakt do zespołu ekspertów, dzięki czemu w razie wątpliwości związanych z żywieniem bądź zdrowiem, można zasięgnąć nieodpłatnej porady eksperta. Część pytań zadawanych przez internautów, jest publikowana wraz z odpowiedzią na stronie w zakładce „Pytania i odpowiedzi”. Na stronie znajdują się również kalkulatory: „Oblicz swoje BMI” i „Kalkulator wartości odżywczej produktów i potraw”. Zespół ekspertów przygotował również liczne przepisy na śniadania i kolacje, pasty kanapkowe, koktajle, zupy, dania główne, desery.

Eksperci polecają również ciekawą literaturę do zgłębiania dla chcących jeszcze bardziej poszerzyć swoją wiedzę. Autorami tych prac są pracownicy naukowcy Instytutu Żywności i Żywienia, jak również osoby z innych ośrodków w kraju i za granicą. Jakość merytoryczna podanych informacji, jest potwierdzona stałą współpracą z Ministerstwem Zdrowia.

W zakładce „Narzędzia dietetyczne”, znajdują się kolejne informacje przedstawiane w ciekawy sposób. Jest to chociażby etykietowe abecadło, w którym po kliknięciu, można uzyskać definicje składników odżywczych i substancji dodawanych do żywności. Ponadto można tu znaleźć jeszcze trzy słowniki: słowniczek-pojęcia podstawowe, w którym znajduje się wytłumaczenie terminologii związanej z żywnością, słowniczek kobiety w ciąży i słowniczek substancji dodatkowych. W tej zakładce można znaleźć jeszcze Quizy dotyczące zasad racjonalnego żywienia i dotyczące aktywności fizycznej dzieci. Pierwszy z nich jest stworzony na trzech poziomach trudności.

Strona Narodowego Centrum Edukacji Żywieniowej ma również zakładki odsyłające do strony internetowej Instytutu Żywności i Żywienia im. prof. dra med. Aleksandra Szczygła

oraz do strony, na której można umówić się na konsultację dietetyczną online. Konsultacja ta jest całkowicie bezpłatna i możliwa od poniedziałku do piątku w godzinach od 8 do 20 oraz w soboty w godzinach od 9 do 17. Konsultacje te są możliwe za pomocą internetu. Należy założyć konto, wypełnić ankietę żywieniową, dołączyć dokumenty dotyczące dotychczasowego leczenia, wyniki badań i wypełnić dwa dodatkowe formularze, które pomogą wykwalifikowanym dietetykom zebrać wiedzę o pacjencie i dzięki temu lepiej przygotować się do zaplanowanej konsultacji. Formularze te dotyczą nawyków żywieniowych i codziennej diety.

Narodowe Centrum Edukacji Żywieniowej jest wiarygodnym źródłem informacji, ponieważ informacje tam zamieszczone są przez wykwalifikowanych, kompetentnych naukowców, którzy publikują najnowsze osiągnięcia nauki. Informacje na tematy związane z żywnością, żywieniem, zdrowiem i inne umieszczone na stronie, są przekazywane prostym i zrozumiałym językiem. Różnorodność form przekazu, pozwala na przyswajanie wiedzy osobom o różnym sposobie uczenia się. To wszystko sprawia, że strona Narodowego Centrum Edukacji Żywieniowej może być efektywnym kanałem zdobywania wiedzy przez Polaków.

Telewizyjne programy edukacyjne na temat zdrowego odżywiania, nie zawsze są rzetelnym źródłem informacji. Informacje przekazywane za ich pośrednictwem, często nie mają odzwierciedlenia w najnowszych wynikach badań publikowanych przez naukowców. W programach tego typu, prowadzący nie wskazują jednoznacznie produktów o niekorzystnym żywieniowo składzie, o złej jakości. Wynika to zakazu stosowania antyreklamy. Przykładem tego są informacje na temat korzyści ze spożywania margaryny przez osoby z wysokim poziomem cholesterolu, podczas gdy w świetle wyników badań, spożywanie trans- kwasów tłuszczowych (zawartych między innymi w margarynach), wpływa znacząco na wzrost poziomu frakcji cholesterolu - LDL. Udowodniono, że u osób, których dieta była bogata w kwasy tłuszczowe nasycone, nastąpiło pogorszenie profilu lipidowego, ale nie w takim stopniu jak u osób, które spożywały w diecie trans-kwasy tłuszczowe (Kochan i in. 2010).

Podsumowanie

Rodzina jest naturalnym środowiskiem zdobywania wiedzy przez dzieci. W celu poprawy świadomości społeczeństwa, należy zadbać o edukację wszystkich członków rodziny, gdyż ważna jest również edukacja dorosłych, którzy mają największy wpływ na wychowanie swoich dzieci. Poprawa świadomości żywieniowej Polaków może znacząco poprawić ich jakość życia poprzez większe wymagania odnośnie jakości spożywanej żywności.

Stosowanie prawidłowej diety, pomaga zapobiegać bądź zminimalizować ryzyko wystąpienia chorób cywilizacyjnych w społeczeństwie.

Internet jest popularnym źródłem pozyskiwania informacji. Może być wykorzystany jako jeden z kanałów komunikacji. Aby komunikacja żywieniowa była efektywna, należy pamiętać o podstawowych zasadach komunikowania się, do których należy m.in. zadbanie o kompetencje edukatora, przekazywanie informacji w prosty sposób, wybranie kanału komunikacji oraz dostosowanie informacji do grupy odbiorców.

Narodowe Centrum Informacji Żywieniowej jest jednostką, która przekazuje informacje według w/w zasad. Informacje zawarte na tej stronie kierowane są do osób, które chcą poszerzać swoją wiedzę dotyczącą zdrowia, zdrowego sposobu odżywiania, zdrowego odchudzania. Strona ta może być źródłem wiarygodnych informacji dla niejednego, zainteresowanego zmianą swojego stylu życia, człowieka.

Telewizyjne programy na temat żywienia nie mogą być jedynym źródłem informacji w kwestii żywności i żywienia, gdyż sposób przekazywania w nich treści, nie zawsze w sposób jednoznaczny wskazuje na jakość i wartość żywieniową produktów.

Literatura

- Charzewska J., Rychlik E., Wolnicka K., Wajszyzyk B. 2010. *Dzieci i młodzież [w:] Praktyczny podręcznik dietetyki*. M. Jarosz (red.). Instytut Żywności i Żywienia. Warszawa: 78.
- Contento I. R. 2018. *Edukacja żywieniowa*. B. Woynarowska, N. Ogińska-Bulik, M. Woynarowska-Sołdan (red.). Wydawnictwo Naukowe PWN. Warszawa. 4-9: 535-544.
- Durkalec-Michalski K., Baraniak A., Jeszka J. 2015. *Wpływ zbilansowania diety na skład ciała i zdolności wysiłkowe rekreacyjnych biegaczy długodystansowych*. *Problemy Higieny i Epidemiologii*. 96(3): 662-667.
- Gil G., Głodek E., Rudy M., Stanisławczyk R., Zin M., Znamirowska. 2009. *Ocena żywności i żywienia*. Wydawnictwo Uniwersytetu Rzeszowskiego. Rzeszów: 320-327.
- Główny Urząd Statystyczny. <http://stat.gov.pl/> (dostęp: 15 grudnia 2018 r.).
- Iłciów A. 2008. Internet. *Przemiany społeczne i ich konsekwencje [w:] Media i społeczeństwo. Nowe strategie komunikacyjne*. M. Sokołowski (red.). Wydawnictwo Adam Marszałek. Toruń: 275-285.
- Instytut Żywności i Żywienia im. prof. dra med. Aleksandra Szczygła. <http://www.izz.waw.pl> (dostęp 3 marca 2019 r.).
- Jarosz M. 2017. *Światowe, europejskie i rządowe strategie poprawy zdrowia poprzez prawidłowe żywienie i aktywność fizyczną [w:] Dietetyka żywność, żywienie w prewencji i leczeniu*. M. Jarosz (red.). Instytut Żywności i Żywienia. Warszawa: 25.
- Kochan Z., Karbowska J., Babicz-Zielińska. 2010. *Trans-kwasy tłuszczowe w diecie-rola w rozwoju zespołu metabolicznego*. *Postępy Higieny i Medycyny Doświadczalnej*. 64: 650-658.

- Konsultacje dietetyczne online. <https://poradnia.ncez.pl/> (dostęp: 3 marca 2019 r.).
- Kubiak A, Kuleczka-Raszewska M. 2014. *Wpływ reklamy na wybory zdrowotne Polaków*. Medycyna Ogólna i Nauki o Zdrowiu. 20(1): 26–30.
- Markocka-Mączka K., Grabowski K., Taboła R. 2016. *Choroby przewlekłe – problem XXI wieku [w:] Dobrostan a edukacja*. Lublin: 180.
- Narodowe Centrum Edukacji Żywnościowej. <https://ncez.pl/> (dostęp: 3 marca 2019 r.).
- Ostrowska L., Karecka U., 2017. *Wpływ diety i aktywności fizycznej na płodność kobiet*. Medycyna Ogólna i Nauk o Zdrowiu, Tom 23, Nr 1: 51-56.
- Przybylska E.. 2018. *Rodzina jako środowisko uczenia się i grupa docelowa edukacji dorosłych. Perspektywa andragogiczna [w:] Edukacyjne konteksty współczesności z myślą o przyszłości*. J. Madalińska-Michalak, N. G. Pikuła (red.). Oficyna Wydawnicza Impuls. Kraków: 659-674.
- Reisner J. 2018. *Rynek telewizyjny w 2017 roku*. Krajowa Rada Radiofonii i Telewizji. Warszawa.
- Stowarzyszenie Wspierania Ekonomii Etycznej „Pro Ethica”, Prawidłowa dieta receptą na zdrowie. <http://proethica.pl/wordpress/wp-content/uploads/2015/02/prawidlowa-dieta-recpta-na-zdrowie.pdf> (dostęp: 3 marca 2019 r.).

Określenie profilu mikrobiologicznego przydomowej winnicy na terenie Rzeszowa

Microbiological quality of home vineyard located in Rzeszów city

Aneta Hoksa

Uniwersytet Rzeszowski
Wydział Biologiczno-Rolniczy
Studenckie Koło Naukowe Technologów Żywności „Ferment”
Opiekun: dr Maciej Kluz

Abstract

As part of the research, the microflora of the Rzeszów vineyard was analyzed. The total number of bacteria and yeasts in the ground and in the grapes was calculated. The macroscopic, microscopic and mass spectrophotometry methods were used to identify microorganisms. The results obtained were compared with other vineyards. Microbiological analysis of the tested vineyard revealed the presence of yeast strains: *Saccharomyces* sp., *Dekkeraanomala*, *Candida* sp and bacteria of the genus: *Lactobacillus* sp., *Pantoeaagglomerans*, *Lactococcus* sp, *Staphylococcus warneri*, *Acetobacter* sp. The chemical composition of grapes and natural vineyard microflora make these fruits a good raw material for carrying alcoholic fermentation and obtaining an alcoholic beverage such as wine. In addition, it has also been shown that the total number of microorganisms on microbiological bases TSA for bacteria and YPD for yeast is higher for ground than for fruit.

Keywords: microflora, vineyard, mass spectrometry, wine

Wstęp

Wino jest jednym z najczęściej pojawiających się motywów w literaturze i sztuce. Już w mitologii oddawano kult Bachusowi – bogowi winorośli i płodności. Swoją popularność zyskało nie tylko przez znane od wieków właściwości relaksujące i uspakajające, ale i prozdrowotne. W literaturze można odnaleźć informacje o pozytywnym wpływie, zwłaszcza wina czerwonego na układ sercowo-naczyniowy, a także na zachowanie równowagi lipidowej w organizmie czy właściwościach przeciwzapalnych, zwalcza też wolne rodniki, ma więc działanie antyoksydacyjne. Spożywane w niewielkich ilościach, wspomaga spalanie tkanki tłuszczowej (Fernandes i in 2017).

Wino jest produktem otrzymywanym z moszczu winogron, który został poddany fermentacji w warunkach beztlenowych, zachodzącej pod wpływem działania drożdży, które przyczyniają się do przekształcania cukru w alkohol. W zależności od tego, jakie wino chcemy uzyskać, stosuje się inny rodzaj drożdży. Przy produkcji tradycyjnych win, najczęściej używa się te z gatunku *Saccharomyces cerevisiae*, do szampanów – *Saccharomyces bayanus*,

natomiast przy moszczach o wyższej kwasowości *Schizosaccharomyces pombe*. Na winoroślach znajduje się również wiele charakterystycznych bakterii.

Ze względu na szeroki asortyment produktów winiarskich, wyróżnić można różne kryteria podziału wina, między innymi ze względu na barwę, zawartość alkoholu, cukru, dwutlenku węgla czy rodzaj zastosowanego surowca. Każdy rodzaj wina charakteryzuje się swoistym bukietem smakowo-zapachowym. Końcowa jakość wyrobu zależy od różnych czynników środowiskowych, odmiany zastosowanych winogron, przebiegu winifikacji oraz sposobu przechowywania gotowego produktu. Wino ze względu na swój złożony skład chemiczny, jest nietrwałe, więc po zabutelkowaniu, musi przebywać w ściśle określonych warunkach, ponieważ podatne jest na procesy zepsucia, które powodują pogorszenie jego właściwości organoleptycznych a także wytworzenie związków szkodliwych dla zdrowia (Cordero-Bueso i in. 2018).

Rynek wina w Polsce stale się rozwija. Obecnie jest już ponad 200 zarejestrowanych winnic, zajmujących łącznie około 330 hektarów. Roczna produkcja tego trunku w naszym kraju, wynosi 6000 hektolitrow, co nie stawia Polski w czołówce producentów Unii Europejskiej. Najwięcej winnic znajduje się na południu kraju, za sprawą bardziej sprzyjającego klimatu i ukształtowania terenu. Inwestycja w winnice to jednak duże ryzyko. Koszt założenia działalności szacuje się na 100000 zł, a ze względu na panujące warunki, uprawiać można jedynie niektóre odmiany. Ponad 30 zarejestrowanych winnic znajduje się w województwie podkarpackim. Większość z nich zlokalizowanych jest w okolicach Rzeszowa i Jasła. Uprawiane są tam odmiany użytkowane do wyrobu win czerwonych jak Rondo oraz Regent, jak również win białych, głównie takie szczepy jak: Aurora, Muscat odeski, Sibera, Jutrzenka czy Seywal Blanc. Nazwy wyprodukowanych win, wywodzą się od nazw odmian, z których zostały wytworzone (Makowski i Miętkiewska-Brynda 2015).

Wiedza na temat prozdrowotnych właściwości wina spowodowała rozwinięcie enoturystyki, która zapoczątkowana została w starożytnej Grecji. Jest to forma turystyki, skoncentrowana głównie na odwiedzaniu miejsc związanych z winem. Jej częścią jest winoterapia, czyli dział odnowy biologicznej, wpływający korzystnie na ciało jak i sferę emocjonalną, można więc stwierdzić, że jest połączeniem terapii z zabiegami kosmetycznymi, w których wykorzystuje się wino oraz wszystkie części winogron: pestki, skórki, miąższ oraz szypułki. Winoterapia ma działanie oczyszczające, odmładzające, regenerujące, odżywiające i odprężające (Rutkowska-Podołowska i Podołowski 2014).

Odnowienie tradycji winiarskich na podkarpaciu, spowodowało powstanie atrakcji turystycznej jaką jest „Podkarpacki Szlak Winnic. Szlak ten obejmuje osiem głównych miejscowości, rozpoczyna się w Jaśle - mieście uznanym za stolicę polskiego wina, a kończy się w „Dolinie Sanu” w winnicy w Sanoku. Enoturystyka na tym terenie proponuje degustacje wina, zwiedzanie piwnic i winnic oraz jedzenie miejscowych potraw podawanych w lokalnych restauracjach. (Nizoł 2016).

Cel i metody pracy

Celem niniejszych badań była analiza składu mikrobiologicznego winogron oraz gleby pochodzących z przydomowej winnicy znajdującej się na terenie Rzeszowa.

Do analizy wykorzystano sześć odmian owoców winogron oraz próbki ziemi, pozyskane z głębokości około 10 cm, które pobrane zostały z przydomowej winnicy znajdującej się na terenie Rzeszowa. Winnica ta umiejscowiona jest w sadzie owocowym, zajmującym powierzchnię około 10 arów. Szczepami winorośli użytymi do badań były: Léonmilot, Siberia, Rondo, Seyval Blanc, Cascade oraz Hiberna. Wszystkie badania przeprowadzone zostały w Katedrze Bioenergetyki i Analizy Żywności Uniwersytetu Rzeszowskiego. Również w tym samym miejscu były przechowywane wszystkie próbki i odczynniki niezbędne do przeprowadzenia badań.

W celu pozyskania mikroflory z gruntu, odważono po 1g gleby do porcelanowego moździerza, dodano 5ml 0,9 % roztworu soli fizjologicznej i delikatnie roz tarto. Następnie z uzyskanej zawiesiny, wykonano rozcieńczenia seryjne. Z próbek o rozcieńczeniu 10^{-4} i 10^{-5} pobrano pipetą po 100 μ l roztworu i wysiano przy pomocy sterylnej głaszczki szklanej na przygotowane wcześniej płytki z podłożami TSA dla bakterii i YPD dla drożdży. Przygotowane szalki Petriego inkubowano w cieplarni przez 72 godziny w temperaturze 28°C. Po upływie określonego czasu, kolonie bakterii oraz drożdży zliczono i przeliczono na jeden gram próbki gleby.

Z zebranych owoców odważono po 5g z każdej odmiany i umieszczono w jałowym falkonie, z 45 ml 0,9% roztworu soli fizjologicznej i poddano wytrząsaniu przy 200 rpm przez 20 minut. Z otrzymanej mieszaniny wykonano rozcieńczenia seryjne. Następnie pobrano pipetą po 100 μ l z każdej próbki z rozcieńczeniem 10^{-2} i 10^{-3} i wysiano na szalki z podłożami TSA i YPD i inkubowano w cieplarni w temperaturze 28°C przez okres 72 godzin. Po upływie określonego czasu, kolonie bakterii oraz drożdży zliczono i przeliczono na jeden gram próbki owoców.

Po zakończeniu inkubacji, sukcesywnie odszczepiano kultury mikroorganizmów i przeszczepiano je sterylną eżą na szalki Petriego z odpowiednią pożywką stosując posiew redukcyjny. Następnie inkubowano je w temperaturze 28°C przez 72 godziny.

Makroskopowa i mikroskopowa identyfikacja mikroorganizmów

Uzyskane kolonie drobnoustrojów oceniono wizualnie i przygotowano do oceny mikroskopowej. W tym celu czystą kolonię drożdży pobrano jednorazową eżą, umieszczono w eppendorfie z wodą destylowaną oraz dokładnie wymieszano za pomocą vortexu. Kolejno pobrano 100 µl otrzymanego roztworu, nakropiono na oczyszczone szkiełko mikroskopowe i przykryto szkiełkiem nakrywkowym. Przygotowane próbki poddano analizie, używając w tym celu mikroskopu marki Olympus BX51 z kamerą DP72 wykorzystując obiektyw o przybliżeniu 40x.

W celu zidentyfikowania próbek winogron i gleby przeniesiono otrzymaną pojedynczą kolonię bakterii do eppendorfu z 300 µl wody i wytrząsano. Następnie dodawano po 900 µl absolutnego etanolu i wirowano przez dwie minuty, przy 10 000 obr/min. Pozostały alkohol usunięto pipetą, a pelet pozostawiono do wyschnięcia. Kolejno dodano 30 µl acetonitrylu i delikatnie wstrząsano. Przez 2 minuty próbki wirowano przy maksymalnych obrotach. 1 µl supernatantu z każdej próbki, umieszczono we właściwych miejscach pomiarowych na płytkach MALDI (MALDI target). Po wyschnięciu, pokrywano je 1 µl matrycy i ponownie pozostawiono do wyschnięcia. W celu identyfikacji płytkę umieszczono w spektrometrze masowym typu MALDI-TOF MS Biotyper. Widmo zostało wygenerowane przez 40 laserowych strzałów o mocy potrzebnej do jonizacji próbki oraz odczytane i przeanalizowane automatycznie, a wyniki pomiaru zostały porównane w czasie rzeczywistym z bazą danych przez odpowiedni program.

Tabela 1 Zasada odczytywania wyników w systemie MALDI TOF MS Biotyper

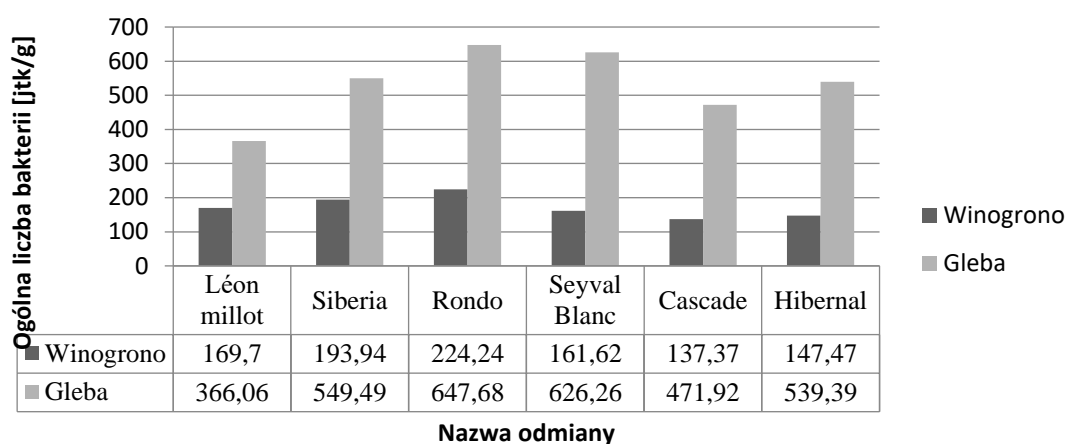
Zakres	Opis	Symbole	Kolor
2.300 ...3.000	Bardzo wysoce prawdopodobna identyfikacja gatunków	(+++)	Zielony
2.000 ...2.299	Wysoce prawdopodobna identyfikacja gatunków	(++)	Zielony
1.700 ...1.999	Prawdopodobna identyfikacja gatunku	(+)	Żółty
0.000 ...1.699	Nie zidentyfikowano gatunku	(-)	Czerwony

Źródło: Opracowanie własne.

Wyniki

Analiza wykazała największą liczbę bakterii wynoszącą $647,68 \pm 52,51$ jtk/g w glebie, przy odmianie Rondo. Z kolei najmniejszą liczbę bakterii stwierdzono w owocach winogron odmiany Cascade, wynoszącą $137,37 \pm 12,62$. Porównując wszystkie uzyskane wyniki, zaobserwowano znaczną przewagę w liczbie drobnoustrojów znajdujących się w glebie, w stosunku do tych występujących na powierzchni winogron.

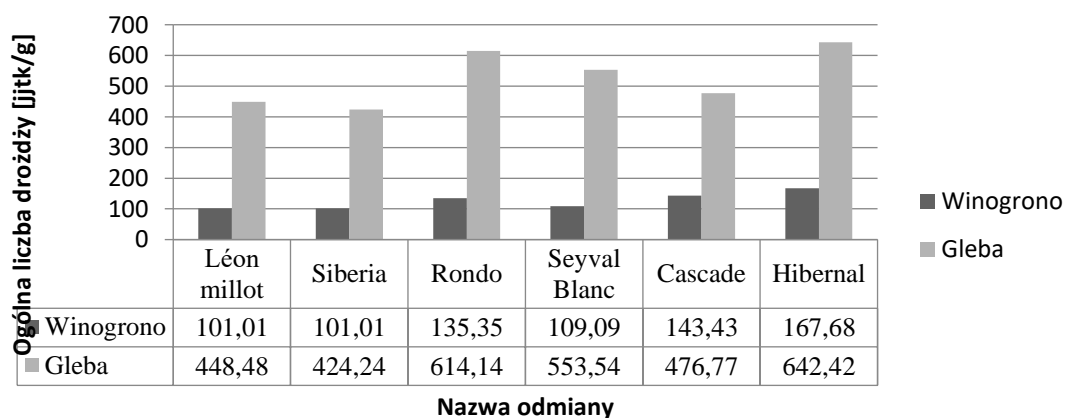
Rysunek 1. Ogólna liczba kolonii bakterii w glebie i na powierzchni winogron na podłożu TSA



Źródło: Opracowanie własne.

W przypadku podłoża YPD z dodatkiem ampicyliny, największą liczbę drobnoustrojów stwierdzono w glebie przy odmianie spod odmiany Hiberna – $642,42 \pm 32,07$ jtk/g. Natomiast najmniejszą liczbę drożdży stwierdzono w próbkach winogron należących do odmian: Léonmillot – $101,01 \pm 12,62$ i Siberia – $101,01 \pm 9,26$ jtk/g.

Rysunek 2. Ogólna liczba kolonii drożdży w glebie i na powierzchni podłożu YPD

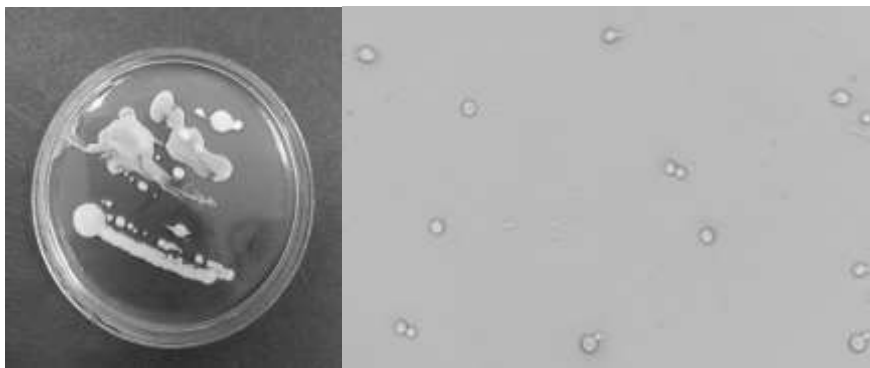


Źródło: Opracowanie własne.

Na podstawie powyższych wyników, przy użyciu programu Statistica v.10, obliczono współczynnik korelacji Metodą Pearsona, na podstawie którego stwierdzono, że rodzaj podłoża mikrobiologicznego, ma wpływ na korelację pomiędzy zawartością mikroorganizmów w glebie a ich obecnością na powierzchni winogron. Na podłożu TSA zaobserwowano słabą korelację, wynoszącą: 0,47. Znaczące różnice w liczbie bakterii spowodowane być mogą stosowaniem znacznych ilości nawozów naturalnych, wnikających bezpośrednio do gleby. Natomiast na podłożu YPD zaobserwowano silną korelację, wynoszącą: 0,72. Duże ilości bakterii, obecne w glebie, nie wpływają na ich ilość w samych owocach. Jednak ilość drożdży w próbie gruntu, jest znacząco powiązana z ich liczbą w winogronach.

W celu przeprowadzenia analizy makroskopowej i mikroskopowej, otrzymane w wyniku wcześniejszych badań kolonie, przeszczepiono na podłoże YPD z dodatkiem ampicyliny (1g/100 ml) i inkubowano w cieplarni w temperaturze 28°C przez 72 godziny. Następnie drożdże pobrano za pomocą sterylnej ezy i umieszczono w eppendorfie. W wyniku obserwacji mikroskopowych, stwierdzono obecność następującej mikroflory drożdżowej na winogronach: *S. cerevisiae bayanus*, *S. cerevisiae*, *S. uvarum*, *Dekkera anomala*

Rysunek 3. Kolonie drożdży *S. cerevisiae*

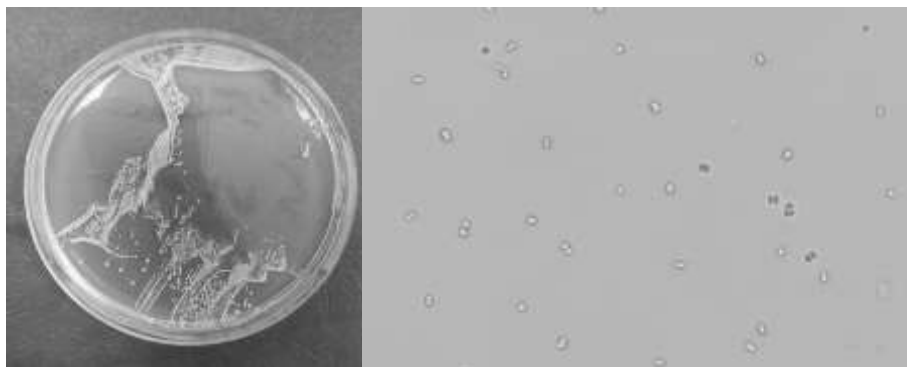


Źródło: Zdjęcie własne.

Rysunek 4. Kolonie drożdży *S. cerevisiae bayanus*



Źródło: Zdjęcie własne.

Rysunek 5. Kolonie drożdży *S. uvarum*

Źródło: Zdjęcie własne.

Rysunek 6. Kolonie drożdży *D. anomala*

Źródło: Zdjęcie własne.

Wyizolowane pojedyncze kolonie drożdży zostały poddane identyfikacji w spektrometrze masowym MALDI-TOF MS Biotyper. W wyniku analizy, ze 100-procentową pewnością stwierdzono obecność *Saccharomyces* sp, *D. anomala*, *Candida* sp (zielony kolor wyników) oraz inne szczepy tj. *Kluyveromyces* sp i *Hanseniaspora* sp (żółty kolor wyników), których obecność potwierdzono dodatkowymi testami.

Tabela 2 Wyniki pomiarów ze spektrometru masowego MALDI TOF MS Biotyper

AnalyteName	Analyte ID	Organism (bestmatch)	Score Value	Organism (secondbestmatch)	Score Value
A8 (++) (A)	YPD5	<i>Sacharomyces</i> sp	2.11	<i>Sacharomyces</i> sp	2.013
B7 (+) (B)	YPD3	<i>Kluyveromyces</i> sp	1.952	<i>Kluyveromyces</i> sp	1.936
B9 (++) (A)	YPD3	<i>Dekkera anomala</i>	2.121	<i>Dekkera anomala</i>	2.043
B10 (++) (A)	YPD10	<i>Candida</i> sp	2.021	<i>Candida</i> sp	2.014
C6 (+) (B)	YPD10	<i>Hanseniaspora</i> sp	1.951	<i>Hanseniaspora</i> sp	1.926

Źródło: Opracowanie własne.

Wyzolowane z winnicy pojedyncze kolonie bakterii, zostały poddane identyfikacji w spektrometrze masowym MALDI TOF MS Biotyper. W wyniku analizy, ze 100% pewnością zidentyfikowano szczepy bakterii: *Lactobacillus* sp., *Bacillus megaterium*, *Pantoea agglomerans*, *Lactococcus* sp., *Staphylococcus warneri* i *Acetobacter* sp. (zielony kolor wyników) oraz inne szczepy bakterii takie jak: *Cellulosimicrobium cellulans*, *Bacillus pseudomycooides* oraz *Acetobacteraceti* (żółty kolor wyników), których obecność potwierdzono dodatkowymi testami.

Tabela 3 Wyniki pomiarów otrzymane ze spektrometru masowego MALDI TOF MS Biotyper

AnalyteName	Analyte ID	Organism (bestmatch)	Score Value	Organism (secondbestmatch)	Score Value
A5 (++) (A)	TSA6	<i>Lactobacillus</i> sp.	2.032	<i>Lactobacillus</i> sp.	1.951
A11 (++) (A)	TSA1	<i>Bacillus megaterium</i>	2.022	<i>Bacillus megaterium</i>	2.021
B3 (+) (B)	TSA4	<i>Cellulosimicrobiumcellulans</i>	1.911	<i>Cellulosimicrobiumcellulans</i>	1.903
B4 (++) (A)	TSA4	<i>Pantoeaagglomerans</i>	2.074	<i>Pantoeaagglomerans</i>	2.031
B12 (+) (B)	TSA3	<i>Bacillus cereus</i>	1.904	<i>Bacillus pseudomycooides</i>	1.891
C4 (++) (A)	TSA12	<i>Lactococcus</i> sp.	2.096	<i>Lactococcus</i> sp.	2.018
C7 (++) (A)	TSA10	<i>Pantoeaagglomerans</i>	2.193	<i>Pantoeaagglomerans</i>	2.143
C8 (++) (A)	TSA1	<i>Staphylococcus warneri</i>	2.006	<i>Staphylococcus warneri</i>	1.991
C12 (++) (A)	TSA12	<i>Acetobacter</i> sp.	2.077	<i>Acetobacter aceti</i>	1.981

Zródło: Opracowanie własne.

Dyskusja

Skórkę winogron zasiedla ogromna ilość mikroorganizmów. Zdrowe owoce zawierają ok 105 jtk/g owocu i ich liczba wzrasta przy uszkodzeniu. Niektóre mikroorganizmy nie mają znaczenia ani wpływu na produkcję wina, jednak są i takie, które silnie wpływają na cały przebieg procesu winifikacji. Najważniejszymi mikroorganizmami są drożdże, które odgrywają istotną rolę w procesie fermentacji. Liczba drobnoustrojów w winnicy zależy od jej lokalizacji, odmiany winogron, stadium ich dojrzałości oraz od warunków klimatycznych, w jakich

uprawiana jest winorośl (temperatura, wilgotność powietrza, ilość opadów i stopień nasłonecznienia). Drobnoustroje nie zasiedlają jedynie owoców. W skład mikroflory winnicy wchodzi również drobnoustroje znajdujące się na urządzeniach, sprzętach oraz w pomieszczeniach. (Pretorius 2000; Jolly i in. 2006).

Prostym sposobem na zidentyfikowanie mikroorganizmów obecnych w próbkach, jest ich analiza mikroskopowa. Za pomocą mikroskopu otrzymano zdjęcia poszczególnych szczepów drożdży, bytujących w badanej winnicy. Na tej podstawie stwierdzono obecność *S. uvarum* oraz *S. bayanus*, a także *D. anomala*. Szczepy te zostały także zidentyfikowane i określone jako naturalna mikroflora winorośli przez Kantor i in. a także potwierdzono ich korzystny wpływ na proces fermentacji alkoholowej oraz produkcję wina (Kantor 2016). Szczep *Saccharomyces* jest powszechny i występuje na powierzchni jagód prawie wszystkich odmian winorośli. Odgrywa ogromną rolę w kształtowaniu smaku i aromatu wina. Ze względu na wytwarzaną przez nie niewielką ilość produktów ubocznych, otrzymywane z nich wino odznacza się dużo lepszą szlachetnością (Barata i in 2012).

Oprócz tych szczepów, przy pomocy spektrometru masowego MALDI TOF MS Biotyper, zidentyfikowano następujące gatunki drożdży: *Kluyveromyces* oraz *Candida sp*, które bytują głównie w glebie, a ich obecność w winie jest wyznacznikiem zanieczyszczenia podczas procesu produkcyjnego i wpływa niekorzystnie na właściwości organoleptyczne napoju. Wykryto również drożdże *Hanseniaspora sp.*, występujące zazwyczaj podczas wstępnej fermentacji moszczu. Kiedy zawartość alkoholu w moszczu osiągnie wartość około 3-4% ,wówczas zaczynają rozwijać się szczepy drożdży z rodzaju *Saccharomyces*.

Za pomocą spektrometru masowego, podczas przeprowadzonych badań, wykryto obecność dwóch rodzajów bakterii gram dodatnich (G+) oraz 5 rodzajów gram ujemnych (G-). Były to: *Lactobacillus sp.*, *B. megaterium*, *C. cellulans*, *P. agglomerans*, *B. cereus*, *B. pseudomycoides*, *Lactococcus sp.*, *S. warneri*, *Acetobacter sp.* oraz *A. aceti*. Obecność większości z nich potwierdziły również badania przeprowadzone przez Kačániová a mianowicie te z rodzaju: *Acetobacter*, *Pantoea*, *Bacillus*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Staphylococcus* (Kačániová 2018). Występowanie bakterii z rodzaju *Bacillus* w podobnych badaniach, wykazano w 2006r. (Dworkin i in. 2006). W analizowanych próbkach zidentyfikowano aż 2 gatunki z rodzaju *Acetobacter*: *Acetobacter sp.* oraz *A. aceti*. Mikroorganizmy te stanowią zanieczyszczenia win, powodując fermentację octową (Bartowsky i Henschke 2008). Bakterie octowe występują powszechnie na winogronach i są uznawane jako niepożądane. Powodują one zanieczyszczenia wina, jego psucie się a także

mogą być przyczyną wad i chorób wina. Jednak mogą mieć one także korzystny wpływ na jego cechy sensoryczne. Pochodzą głównie z gleby, wody, ale także mogą być przenoszone przez owady. Wystąpiły również bakterie z rodzaju *Lactobacillus*, pochodzące z chorych winogron, mogące powodować gorzknienie czerwonych win podczas długiego okresu przechowywania (Bae i in. 2006).

Wiele z wyżej wymienionych mikroorganizmów zostało wyizolowanych jedynie z próbek gruntu. Bakterie glebowe są odpowiedzialne za rozkład materii organicznej i uwolnienie składników odżywczych dla roślin. W efekcie ilość i jakość plonów w znacznej mierze zależy od żyzności gleby. W celu jej poprawienia, stosuje się m.in. nawozy naturalne, które zwiększają liczbę drobnoustrojów. Porównując otrzymane wyniki badań oraz dane literaturowe można stwierdzić, że wyizolowane podczas realizacji tej pracy drożdże i bakterie, zaliczają się do naturalnej mikroflory typowych winnic.

Podsumowanie

Mikroorganizmy nie stanowią jedynie źródła zanieczyszczeń oraz zakażeń. Pełnią bardzo ważną rolę w naszym ekosystemie. Stanowią naturalną część środowiska. W winiarstwie są niezbędne do wytwarzania trunków o niepowtarzalnych walorach organoleptycznych, cenionych przez smakoszy. Kształtują cechy fizyko-chemiczne oraz sensoryczne wina.

Wnioski:

Naturalna mikroflora owoców winogron oraz gleby jest bardzo zróżnicowana. Analiza mikrobiologiczna wykazała znacznie mniejszą ogólną liczbę drobnoustrojów w winogronach w porównaniu do gleby.

System MALDI TOF MS Biotyper jest skutecznym i szybkim sposobem do identyfikacji drobnoustrojów.

Ocena mikrobiologiczna badanej winnicy wykazała obecność szczepów drożdży *Saccharomyces* sp., *D. anomala*, *Candida* sp. oraz bakterii *Lactobacillus* sp., *P. agglomerans*, *Lactococcus* sp., *S. warneri*, *Acetobacter* sp.

Dzięki zastosowaniu analizy mikroskopowej, potwierdzono obecność czterech szczepów drożdży, *S. cerevisiae*, *S. uvarum*, *S. bayanus*, *D. anomala*.

Badania przydomowej winnicy, z wykorzystaniem spektrometru masowego MALDI TOF MS Biotyper, wykazały obecność nasępujących bakterii: *Lactobacillus* sp.,

B. megaterium, *C. cellulans*, *P. agglomerans*, *B. cereus*, *B. pseudomycooides*, *Lactococcus* sp., *S. warneri*, *Acetobacter* sp., *A. aceti*.

Literatura

- Bae.S., Fleet G., Heard G.M. 2006. *Lactic acid bacteria associated with wine grapes from several Australian vineyards*. Journal of Applied Microbiology, 100: 712-727.
- Barata A., Malfeito-Ferreira M., Loureiro V. 2012. *The microbial ecology of wine grape berries*. International Journal of Food Microbiology, 153 (3): 243-259.
- Bartkowsky E.J., Henschke P.A. 2008. *Acetic acid bacteria spoilage of bottled red wine- A review*. International Journal of Food Microbiology, 125 (1): 60-61.
- Cordero-Bueso G., Izquierdo-Canas P.M., Suzzi G. 2018. *Microorganisms for a Sustainable Viticulture and Winemaking*. Food Microbiology. Frontiers in Microbiology, 9: 2650-2651.
- Dworkin M., Falkow S., Rosenberg E., Schleifer K.H. Stackebrandt E. 2006. *The Prokaryotes – A Handbook on Biology of Bacteria* 3rd ed. [5] The Family Acetobacteraceae: The Genera Acetobacter, Acidomonas, Asaia, Gluconacetobacter, Gluconobacter and Kozakia, 5: 163-200.
- Fernandes I., Perez-Gregorio R., Soares S., Mateus N., De Freitas V. 2017. *Wine Flavonoids in Health and Disease Prevention*. Molecules, 22 (2): 1-4.
- Jolly N.P., Augustyn O.P.H., Pretorius I.S. 2006. *The Role and Use of Non-Saccharomyces Yeasts in Wine Production*. South African Journal of Enology and Viticulture, 27(1): 15-39.
- Kacaniova M., Kantor A., Kunova S., Ivanisova E., Felsociova S., Kluz M., Hanus P. 2018. *Identification of Grape, Must Wine Microorganism with Mass Spectrometry MALDI TOF-MS Biotyper*. Journal of Tourism, Hospitality and Commerce, 9 (1): 66-70.
- Kantor A. 2016. *Vplyv Mikroorganizmov na Finalnu Kvalitu Vina*. Dizertacna praca, Slovenska Polnohospodarska Univerzita v Nitre: 150-180.
- Makowski J., Miętkiewska-Brynda J. 2015. *Turystyka winiarska w Polsce*. Zeszyty naukowe. Turystyka i Rekreacja, Wydawnictwo WSTiJO, Warszawa, 1 (15): 168-169.
- Nizoł A. 2016. *Rola produktów lokalnych w rozwoju funkcji turystycznej regionu na przykładzie Podkarpacia*. Annales Universitatis Mariae Curie-Skłodowska, sectio B-Geographia, Geologia, Mineralogia et Petrographiam. Wydawnictwo UMCS, Lublin, 71 (2): 109-110.
- Pretorius I.S. 2000. *Tailoring wine yeast for the new millenium, novel approaches to the ancien art. Of winemaking*. Yeast., 16: 675-729.
- Rutkowska-Podołowska M., Podołowski Ł. 2014. *Winoterapia, jako część enoturystyki i jej wpływ na organizm człowieka*. Wyższa Szkoła Turystyki i Języków Obcych w Warszawie, Warszawa: 53-6

