

Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie

**Wybrane zagadnienia  
z zakresu produkcji surowców,  
żywności i kosmetyków**

**Środowisko - Roślina - Zwierzę - Produkt**

**WUP**

Wybrane zagadnienia  
z zakresu produkcji surowców, żywności i kosmetyków

Środowisko – Roślina – Zwierzę – Produkt

Wybrane zagadnienia  
z zakresu produkcji surowców, żywności  
i kosmetyków

pod redakcją  
Marka Babicza  
Kingi Kropiwiiec-Domańskiej

Lublin 2021

Recenzenci  
prof. dr hab. Tomasz Daszkiewicz  
dr hab. Joanna Tkaczewska, prof. UR w Krakowie

Skład i łamanie  
Małgorzata Grzesiak

Opracowanie redakcyjne  
Agnieszka Brach

Projekt okładki  
Jacek Pałyszka



Ten utwór jest dostępny na licencji Creative Commons Uznanie autorstwa –  
Użycie niekomercyjne – Bez utworów zależnych 4.0 Międzynarodowe.

**ISBN 978-83-7259-342-9 on-line**

DOI: 10.24326/mon.2021.9

**WUP**

Wydawnictwo Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie

ul. Akademicka 15, 20-950 Lublin

<https://up.lublin.pl/nauka/wydawnictwo/>

15 ark. wyd.

## Spis treści

<b>Justyna Bochnak-Niedźwiecka, Katarzyna Banach, Katarzyna Łupina, Michał Świeca</b> Możliwości wykorzystania mikrokapsułkowania w celu poprawy stabilności napojów funkcjonalnych na bazie liofilizowanych warzyw i owoców ..... 9 Possibilities of using microencapsulation to improve the stability of functional drinks based on freeze-dried vegetables and fruits	
<b>Justyna Ciećko, Adrianna Romańska, Marek Kowalczyk, Piotr Domaradzki, Monika Kędzierska-Matysek, Anna Teter, Piotr Skalecki, Mariusz Florek, Małgorzata Dmoch, Michał Kondraciuk</b> Ocena profilu kwasów tłuszczowych olejów roślinnych wykorzystywanych w żywieniu człowieka i kosmetyce ..... 16 Assessment of the fatty acid profile of vegetable oils used in human nutrition and cosmetology	
<b>Patrycja Ciepłińska, Weronika Fac, Kamila Rybczyńska-Tkaczyk</b> Substancje pochodzenia mikrobiologicznego wykorzystywane w przemyśle kosmetycznym ..... 23 Substances of microbiological origin used in the cosmetics industry	
<b>Karolina Dębek, Maciej Kalinowski, Angelika Mastalerczyk, Jan Dąbrowski, Anna Boguszewska-Czubarą</b> Zastosowanie kukurbitacyny B w terapii nowotworów ..... 30 Clinical application of cucurbitacin B in cancer	
<b>Robert Gosik</b> Przeżywalność kultur probiotycznych w dwóch rodzajach maślanki ..... 37 Survival of probiotic bacteria in two types of buttermilk	
<b>Aleksandra Horbowicz, Kamila Talarek, Małgorzata Marczak</b> Inżynieria glikozylotransferaz bakteryjnych ..... 44 Engineering of bacterial glycosyltransferases	
<b>Justyna Komsta, Sylwia Sosik, Monika Kędzierska-Matysek, Anna Teter, Barbara Topyła, Piotr Domaradzki, Marek Kowalczyk, Małgorzata Ryszkowska-Siwko</b> Produkty pszczele jako surowce pochodzenia zwierzęcego wykorzystywane w kosmetyce ..... 51 Bee products as raw materials of animal origin used in cosmetics	
<b>Dominika Krakowiak, Oliwia Łopatniuk, Justyna Bohacz</b> Pleśnie i mykotoksyny w produktach żywnościowych o niskiej i wysokiej aktywności wodnej ..... 58 Molds and mycotoxins in food products with low and high water activity	
<b>Kinga Kraśnicka</b> Oznaczenie potencjału antyoksydacyjnego oraz związków polifenolowych w suszonych produktach zielarskich ..... 65 Designation of the antioxidant potential and polyphenolic compounds in dried herbal products	
<b>Antonina Krawczyk, Jan Sadurski, Anita Gorczyca, Magdalena Polak-Berecka</b> Biofilm bakteryjny w produkcji żywności ..... 74 Bacterial biofilm in food processing	

<b>Aleksandra Kurzajewska, Monika Ługowska, Katarzyna Rubinowska</b> Olej konopny – właściwości i możliwości wykorzystania w kosmetologii .....	81
Hemp oil – properties and possible use in cosmetology	
<b>Julia Kusy, Anna Masłowska, Ewa Januś</b> Ślimak w kuchni i w salonie urody .....	88
A snail in the kitchen and in the beauty salon	
<b>Anna Lechowicz, Kornelia Kwolek</b> Analiza rearanżacji w rejonie regulatorowym genu <i>VvmybA1</i> winorośli warunkującym barwę owoców .....	96
Analysis of rearrangements in the regulatory region of the <i>VvmybA1</i> gene in grapevine	
<b>Anna Masłowska, Julia Kusy, Marek Kowalczyk, Piotr Domaradzki, Monika Kędzierska-Matysek, Anna Teter, Piotr Skalecki, Agnieszka Kaliniak-Dziura, Małgorzata Dmoch</b> Metody sensoryczne w ocenie jakości kosmetyków .....	104
Sensory methods in assessing the quality of cosmetics	
<b>Artur Niedzielski, Monika Szymczuk, Jakub Kalinowski, Marek Babicz, Kinga Kropiwiiec-Domańska</b> Dodatki naturalne i syntetyczne stosowane w przetwórstwie mięsa wieprzowego .....	112
Natural and synthetic additives used in the processing of pork	
<b>Iwona Niedźwiedź Paulina Jedut, Magdalena Polak-Berecka</b> Zimna plazma w produkcji żywności .....	123
Cold plasma in food processing	
<b>Emilia Osmólska, Marta Krajewska, Agnieszka Sagan, Beata Zdybel, Agnieszka Starek-Wójcicka</b> Chemiczne właściwości tłoczonego na zimno oleju z nasion lnu z dodatkiem suszonych owoców sumaka .....	129
Chemical properties of cold-pressed linseed oil with dried sumac fruit	
<b>Emilia Osmólska, Agnieszka Starek-Wójcicka, Agnieszka Sagan, Marta Krajewska, Beata Zdybel</b> Przydatność wybranych odmian owoców do produkcji soków NFC .....	136
Usefulness of selected varieties of fruit for the production of NFC juices	
<b>Dominika Polesiak, Jowita Kwiatkowska, Aneta Krawiec, Katarzyna Zdrzałek, Paweł Żółkiewski, Piotr Domaradzki, Piotr Stanek, Marek Kowalczyk, Małgorzata Dmoch, Monika Kędzierska-Matysek, Justyna Zdyb-Domaradzka, Agnieszka Żelazna, Kamila Steciuk</b> Ocena jakości masła dostępnego na rynku lubelskim .....	146
Assessment of the quality of butter available on the Lublin market	
<b>Jan Sadurski, Antonina Krawczyk, Anita Gorczyca, Magdalena Polak-Berecka</b> Egzopolisacharydy w produkcji żywności funkcjonalnej .....	154
Exopolysaccharides in the production of functional food	
<b>Patrycja Skwarek, Karolina Buć, Justyna Libera</b> Jakość wybranych probiotycznych jogurtów i napojów mlecznych dostępnych na lokalnym rynku .....	161
Quality of selected probiotic yoghurts and dairy drinks available on the local market	

<b>Magdalena Stobiecka, Jolanta Król, Aneta Brodziak</b>	
Warunki obsługi konsumenta w obiektach gastronomicznych na podstawie arkusza oceny i testów wskaźnikowych .....	170
Conditions of customer service practice in relation to food safety on the basis of the evaluation sheet and indicator tests	
<b>Kavya Venugopal, Emilia Bernaś, Piotr Zięba</b>	
Ocena przydatności do kiszenia owocników <i>Pleurotus pulmonarius</i> .....	180
Assessment of suitability for lactic acid fermentation the fruiting bodies of <i>Pleurotus pulmonarius</i>	
<b>Joanna Wajs, Anna Jańczuk</b>	
Zastosowanie mleka różnych gatunków zwierząt w przemyśle farmaceutycznym i kosmetycznym .....	188
The use of milk of various animal species in the pharmaceutical and cosmetic industries	
<b>Joanna Wajs, Karolina Król, Magdalena Stobiecka</b>	
Analiza rynku mlecznych produktów bezlaktozowych .....	197
Market analysis of lactose-free dairy products	
<b>Eliza Wargala, Martyna Sławska, Agnieszka Zalewska, Magdalena Toporowska</b>	
Mikroplastik w kosmetykach – analiza składu kosmetyków oraz wpływ mikroplastiku na środowisko .....	206
Microplastic in cosmetics – analysis of the composition of cosmetics and the impact of microplastic on the environment	





Justyna Bochnak-Niedźwiecka<sup>1</sup>, Katarzyna Banach<sup>2</sup>,  
Katarzyna Łupina<sup>1</sup>, Michał Świeca<sup>1</sup>

## **Możliwości wykorzystania mikrokapsułkowania w celu poprawy stabilności napojów funkcjonalnych na bazie liofilizowanych warzyw i owoców**

Possibilities of using microencapsulation to improve the stability  
of functional drinks based on freeze-dried vegetables and fruits

W ostatnich latach obserwuje się gwałtowny wzrost zainteresowania konsumentów tematem właściwego, zbilansowanego odżywiania oraz wpływu żywności na jakość życia człowieka [Lau i in. 2012]. Wiąże się to przede wszystkim z rosnącą świadomością konsumentów oraz większym naciskiem kładzionym na propedeutykę zdrowia. Zmieniające się trendy na rynku żywności odzwierciedlają w dużej mierze zapotrzebowanie generowane przez nowoczesnych konsumentów, którzy uważniej podejmują decyzję na temat tego, co jedzą i jakie korzyści niosą ze sobą określone składniki w utrzymaniu dobrego stanu zdrowia [Pang i in. 2012]. Zapotrzebowanie to ma odzwierciedlenie także w badaniach rozwojowych, o czym świadczy wzrastająca z roku na rok liczba prac naukowych dotyczących wpływu diety i jej zróżnicowania na zdrowie oraz ogólne dobre samopoczucie człowieka.

Obecnie spożywanie żywności ma na celu nie tylko zaspokojenie głodu i dostarczenie organizmowi niezbędnych składników odżywczych, ale również zapobieganie chorobom związanym z niedoborami w diecie oraz poprawianie zdrowia fizycznego i psychicznego. Pod tym względem żywność funkcjonalna odgrywa wyjątkową rolę [Lau i in. 2012, Pang i in. 2012]. Żywność funkcjonalna to żywność wzbogacona w składniki, które zapewniają korzyści zdrowotne lub zmniejszają ryzyko wystąpienia chorób przewlekłych. Bioaktywne składniki w żywności funkcjonalnej zapewniają zyski zdrowotne wykraczające poza ich podstawową rolę żywieniową [Speranza i in. 2017, Ruiz Canizales i in. 2019]. Często są one jednak bardzo wrażliwe na warunki technologiczne, niestabilne podczas przechowywania lub charakteryzują się niekorzystnym profilem organoleptycznym. Z uwagi na powyższe zastosowanie ich jako dodatków funkcjonalnych do żywności stanowi duże wyzwanie dla przemysłu spożywczego. Technologia kapsułkowania wydaje się doskonałą techniką ochrony wrażliwych składników żywności i stanowi alternatywę opracowywania nowych receptur żywności o ulepszonych właściwościach [Nazzaro i in. 2012, Peanparkdee i in. 2016, Arenas-Jal i in. 2020].

W przemysłowym spożywczym mikrokapsułkowanie składników stosuje się w celu przedłużenia trwałości, ochrony substancji aktywnej przed ubytkiem na skutek odparowania, stabilizacji nietrwałych składników żywności przed rozkładem (np. pod wpływem

---

<sup>1</sup> Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, Wydział Nauk o Żywności i Biotechnologii, Katedra Biochemii i Chemii Żywności, just.bochnak@gmail.com

<sup>2</sup> Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, Wydział Nauk o Żywności i Biotechnologii, Katedra Biotechnologii, Mikrobiologii i Żywienia Człowieka

światła, tlenu, wilgoci), ochrony przed zakażeniem mikrobiologicznym, maskowania niepożądanego smaku i aromatu, poprawienia tekstury, niedopuszczenia do niepożądanych interakcji pomiędzy składnikami żywności, ułatwienia użycia substancji płynnych przez przekształcenie ich w ciała stałe, umożliwienia kontrolowanego, stopniowego wydzielenia substancji czynnej, poprawienia smaku, koloru i wyglądu produktów [Nazzaro i in. 2012, Peanparkdee i in. 2016].

Poszczególne składniki wchodzące w skład systemów żywnościowych powoli ulegają degradacji i tracą swoją aktywność lub stają się niebezpieczne, propagując łańcuch reakcji utleniania. Reagują one również ze składnikami obecnymi w systemie żywnościowym, które mogą ograniczać biodostępność lub zmieniać kolor i smak produktu. Mikrokapsułkowanie polega na otoczeniu substancji kapsułkowanej (rdzenia, jądra, substancji aktywnej) ściankami i zamknięciu jej w ten sposób w powstałej strukturze. Najprostsze z mikrokapsułek składają się z rdzenia otoczonego ścianą lub przegrodą o jednakowej lub niejednorodnej grubości (0,2–500,0 mm), która chroni składniki wrażliwe przed procesami degradacyjnymi [Peanparkdee i in. 2016].

W dzisiejszych czasach obserwowana jest silna tendencja do spożywania żywności niskoprzetworzonej oraz tzw. żywności wygodnej, która jest łatwa i szybka w przygotowaniu. Bardzo dobrze wpisują się w te trendy napoje i koktajle, do których można zaliczyć np. napoje na bazie liofilizowanych warzyw i owoców [Bochnak-Niedźwiecka i in. 2020]. Produkty takie cechują się przede wszystkim łatwością w przygotowaniu oraz zbliżonymi do naturalnych wartościami odżywczymi dzięki wykorzystaniu nowoczesnych metod utrwalania półproduktów. Podczas projektowania napojów funkcjonalnych na bazie warzyw i owoców jednym z problemów napotkanych przez autorów był charakterystyczny „fasolowy” posmak kiełków soczewicy, które stanowiły bazę ww. napojów. Jednym z rozwiązań tego problemu może być enkapsulacja tej frakcji w nośniku węglowodanowym, co dodatkowo może poprawić reologiczne właściwości produktu.

### **Techniki mikroenkapsulacji**

Mikrokapsułkowanie jest definiowane jako proces powlekania małych cząstek ciał stałych, cieczy lub składników gazowych ochronnym materiałem powłokowym [Speranza i in. 2017]. W swojej najprostszej postaci mikrokapsułka to mała kula otoczona jednolitą ścianą. Materiał wewnątrz mikrokapsułki jest określany jako rdzeń, matryca, faza wewnętrzna lub aktywny agent, podczas gdy ściana zewnętrzna jest czasami nazywana powłoką, materiałem nośnikowym, materiałem powłokowym, materiałem nośnym, fazą zewnętrzną lub membraną [Ruiz Canizales i in. 2019]. Do produkcji mikrokapsułek wykorzystuje się szereg metod, które bazują na różnych technikach suszarniczych.

#### **Suszenie rozpyłowe**

Suszenie rozpyłowe to najpowszechniejsza technika mikrokapsułkowania stosowana w przemyśle spożywczym. Stała się ona najbardziej rozpowszechnioną technologią wykorzystywaną do wytwarzania aromatów [Aliakbarian i in. 2018]. Przy użyciu tej metody zostały zamknięte w matrycach witaminy, minerały, barwniki, aromaty tłuszczów i olejów, związki aromatyczne, oleożywice i enzymy [Arenas-Jal i in. 2020]. Z uwagi na ekonomiczność, a także skuteczność, suszenie rozpyłowe jest najczęściej stosowane

zwłaszcza w przypadku enkapsulacji aromatów [Nizori i in. 2020]. Jako nośniki wykorzystuje się zazwyczaj modyfikowane frakcje węglowodanowe lub białkowe, np. skrobię, maltodekstrynę, gumę arabską, żelatynę [Jeyakumari i in. 2016]. W procesie homogenizuje się matrycę z materiałem nośnikowym w określonym stosunku, który zwykle decyduje o wydajności procesu i właściwościach funkcjonalnych mikrokapsulek. Mieszaninę podaje się do suszarki rozpyłowej i rozpyla za pomocą dyszy lub kołowrotka. Woda jest odparowywana przez gorące powietrze stykające się z rozpylonym materiałem. Następnie kapsułki, po opadnięciu na dno suszarki, są zbierane. Mikrokapsułkowanie z wykorzystaniem techniki suszenia rozpyłowego zapewnia przewagę nad konwencjonalnymi metodami mikrokapsułkowania, ponieważ wytwarza mikrokapsułki w stosunkowo prostym, ciągłym procesie [Nizori i in. 2020].

Najważniejszym etapem hermetyzacji dowolnego materiału rdzenia metodą suszenia rozpyłowego jest dobór odpowiedniego materiału ściennego, który powinien tworzyć ciągłą, cienką warstwę i chronić materiał rdzenia przed zniszczeniem. Materiał taki musi spełniać następujące cechy: powinien być tani, mieć łagodny smak i być stabilny podczas przechowywania [Peanparkdee i in. 2016]. Pożądany profil funkcjonalny materiału kapsułkującego obejmuje wysoką rozpuszczalność, skuteczne emulgowanie, niską lepkość przy wysokim poziomie ciał stałych, niską higroskopijność, łatwe uwalnianie materiału rdzenia i wydajne właściwości suszące [Nazzaro i in. 2012]. Takie kryteria spełniają m.in. guma arabska oraz skrobia – modyfikowana i hydrolizowana.

### **Guma arabska**

Jednym z podstawowych materiałów nośnikowych stosowanych w suszeniu rozpyłowym jest guma arabska – naturalny wysięk z pnia i gałęzi roślin z rodziny *Acacia*. Guma ta jest efektywnym nośnikiem, ponieważ cechuje ją dobra rozpuszczalność w wodzie, tworzy ona roztwory o małej lepkości oraz ma zdolność do tworzenia ochronnego filmu wokół cząstek fazy zdyspergowanej emulsji. Jest to jednak stosunkowo drogi nośnik o zmiennych właściwościach poszczególnych partii [Przybysz i in. 2012].

### **Skrobia modyfikowana**

Skrobie modyfikowane chemicznie najdokładniej odtwarzają funkcjonalne właściwości gumy arabskiej. Naturalne skrobie praktycznie nie mają właściwości emulgujących. Estryfikacja cyklicznym bezwodnikiem kwasu dikarboksyłowego nadaje właściwości emulgujące częściowo zhydrolizowanym skrobiom. Technika ta jest praktykowana na skalę przemysłową, aby materiał ścienny był dostosowany do potrzeb. Stwierdzono, że modyfikowane skrobie są lepsze niż guma arabska pod względem właściwości emulgujących i zatrzymywania lotnych smaków podczas suszenia rozpyłowego.

### **Skrobia hydrolizowana**

Maltodekstryny są produktami hydrolizy skrobi i stanowią jeden z najpopularniejszych materiałów ściennych lub nośnych. Hydrolizowane skrobie są dostępne w ekwiwalencie glukozowym DE (ang. dextrose equivalent) w zakresie od 2 do 36,5. Jako materiał ścienny najlepsze właściwości chroniące przed niekorzystnymi procesami utleniania mają maltodekstryny o wysokim DE. Im wyższy jest równoważnik glukozowy, tym większa stabilność przechowalnicza substancji takich jak aromaty czy  $\beta$ -karoten. Charakteryzują się niską lepkością przy dużej całkowitej zawartości substancji stałych. Brakuje im jednak właściwości emulgujących. Dlatego są stosowane razem z gumą arabską lub innymi środkami emulgującym [Speranza i in. 2017].

### **Chłodzenie rozpyłowe**

W celu zminimalizowania powstających strat w trakcie suszenia rozpyłowego opracowano inne metody rozpyłowego kapsułkowania, takie jak chłodzenie rozpyłowe. W przypadku tej techniki materiał do kapsułkowania miesza się z nośnikiem i rozpyla za pomocą schłodzonego powietrza w przeciwieństwie do ogrzanego powietrza używanego do suszenia rozpyłowego. W chłodzeniu rozpyłowym do powlekania rdzenia stosuje się tłuszcze, stearynę, mono- i diglicerydy o temperaturze topnienia zawartej w przedziale 45–122°C oraz uwodornione oleje roślinne o temperaturze topnienia w zakresie 32–42°C. Uzyskane z nich mikrokapsułki mogą jednak wymagać specjalnych warunków przechowywania ze względu na niską temperaturę topnienia [Peanparkdee i in. 2016].

Chłodzenie rozpyłowe to najtańsza technologia kapsułkowania, rutynowo stosowana do kapsułkowania wielu organicznych i nieorganicznych soli, a także witamin, minerałów, środków zakwaszających, enzymów, aromatów oraz innych funkcjonalnych składników w celu poprawy stabilności cieplnej i opóźnienia uwalniania się w wilgotnym środowisku [Speranza i in. 2017].

### **Mikrokapsułkowanie za pomocą liposomów**

Składnik kapsułkowany może być zamknięty wewnątrz liposomu lub rozmieszczony między warstwami tłuszczowymi. Liposom lub pęcherzyk lipidowy definiuje się jako strukturę złożoną z dwóch warstw lipidowych. W przemyśle znalazło to zastosowanie jako nośniki szczepionek, hormonów, enzymów i witamin [Subramani i Ganapathyswamy 2020]. Lipidy są dogodnym materiałem wykorzystywanym w systemach kontrolowanego uwalniania leków, kosmetyków, a w przemyśle spożywczym – enzymów przyspieszających dojrzewanie sera [Eduardo i Emmanuel 2018]. Składają się z jednej lub więcej warstw lipidów, są nietoksyczne i dopuszczalne dla wykorzystania w przypadku żywności. Przepuszczalność, stabilność, aktywność powierzchniowa oraz powinowactwo można zmieniać poprzez zmiany wielkości i składu lipidów. Mogą mieć one średnicę od 25 nm do kilku mikronów, są wytrzymałe mechanicznie – można je zamrażać i liofilizować. Fosfolipidy tworzą zewnętrzną warstwę lub warstwy liposomów. Część hydrofilowa lipidów jest zwrócona w kierunku fazy wodnej, a grupy hydrofobowe łączą się z hydrofobowymi w innych cząsteczkach lipidów. Kulisty kształt tworzy bardzo stabilną kapsułkę ze względu na brak interakcji lipidów z wodą. Skład fosfolipidów oraz zastosowany proces decydują o tym, czy utworzy się jedna warstwa czy kilka warstw.

### **Liofilizacja**

Liofilizacja (suszenie sublimacyjne) to proces stosowany do odwodnienia prawie wszystkich materiałów i aromatów wrażliwych na ciepło. Wykorzystywany jest do kapsułkowania rozpuszczalnych w wodzie koncentratów oraz naturalnych aromatów. Technika ta wymaga długiego okresu odwadniania (zwykle 20 godzin). Liofilizacja jest prostą techniką, odpowiednią szczególnie do kapsułkowania materiałów aromatycznych. Retencja związków lotnych w trakcie liofilizacji zależy od wykorzystanej matrycy [Peanparkdee i in. 2016, Eduardo i Emmanuel 2018].

## Zastosowanie mikrokapsułkowania bioaktywnych składników w przemyśle spożywczym

Mikrokapsułkowanie to proces zamykania substancji rdzeniowej, zazwyczaj lotnej lub wrażliwej, w powłoce z innego materiału w celu ochrony jej przed uwalnianiem się z matrycy lub szkodliwym działaniem czynników środowiska, takich jak światło, temperatura czy tlen atmosferyczny. Materiałem powlekanym są zazwyczaj witaminy, nienasycone kwasy tłuszczowe, enzymy, oleje, olejki eteryczne, zaś materiałem powlekającym jest substancja dopasowana chemicznie do rdzenia i zapewniająca mu ochronę oraz przedłużenie trwałości, taka jak polisacharydy, białka, polimery naturalne i syntetyczne. Rodzaj materiału powłokowego oraz metoda mikrokapsułkowania decydują o funkcjonalnych i technologicznych właściwościach kapsułek. Powszechnie stosowanym materiałem powłokowym są polisacharydy, które cechuje zdolność do żelowania, emulgowania i stabilizowania emulsji oraz obojętność chemiczna. Polisacharydy należące do frakcji błonnika pokarmowego, takie jak  $\beta$ -glukan, inulina, guma arabska czy pektyny, wykazują także wiele właściwości prozdrowotnych.

Tabela 1. Zastosowanie mikrokapsułkowania bioaktywnych składników w przemyśle spożywczym [Abd Manaf i in. 2015, Aliakbarian i in. 2018]

Rodzaj kapsułkowanych składników żywności	Przykłady zastosowania
Lipidy: olej rybny, kwas linolenowy, olej z otrębów ryżowych, olej sardynkowy, kwas palmitynowy, olej z tłuszczu fokowego	Zapobieganie degradacji oksydacyjnej podczas przetwarzania i przechowywania
Substancje smakowe: olejek cytrusowy, olejki miętowe, oleje cebulowe, czosnkowe, oleożywice przyprawowe	Przekształcenie płynnych aromatów w stabilne i sypkie proszki, które są łatwiejsze w użyciu
Witaminy: – rozpuszczalne w tłuszczach: A, D, E i K – rozpuszczalne w wodzie: C, B1, B2, B6, B12, niacyna, kwas foliowy	Minimalizowanie nieprzyjemnego posmaku, uwolnienie w czasie poszczególnych składników odżywczych, zwiększanie stabilności na ekstremalne temperatury i wilgoć, zmniejszanie każdej interakcji składników odżywczych z innymi składnikami
Enzymy i mikroorganizmy: lipaza, inwertaza, <i>Brevibacterium linens</i> , <i>Penicillium roqueforti</i> , bakterie kwasu mlekowego	Poprawia stabilności podczas przechowywania w stanie suchym, skrócenie czasu dojrzewania, poprawa stabilności kultur starterowych, zwiększenie retencji w gotowych produktach
Zakwaszacze: kwas mlekowy, glukono-g-lakton, witamina C, kwas octowy, sorbinian potasu, sorbinian kwas, propionian wapnia i chlorek sodu	W przemyśle piekarniczym stosuje się stabilne kwasy i sodę oczyszczoną w mokrych i suchych mieszankach do kontroli wydzielania dwutlenku węgla podczas przetwarzania oraz pieczenia
Słodziki: cukry (odżywcze lub sztuczne), aspartam	Minimalizują higroskopijność, poprawiają sypkość i przedłużają percepcję słodczy
Barwniki: annato, $\beta$ -karoten, kurkuma	Barwniki zamknięte w mikrokapsułkach są bezpieczniejsze, lepiej rozpuszczalne, stabilne

Mikrokapsułkowanie może wpływać na stabilność produktów spożywczych, ich wartość prozdrowotną czy też właściwości organoleptyczne. W tabeli 1 przedstawiono przykłady substancji funkcjonalnych mikroksapułkowych w przemyśle spożywczym oraz ich zastosowania.

## Podsumowanie

W procesie mikrokapsułkowania reaktywne, wrażliwe lub lotne dodatki do żywności mogą być przekształcane w stabilne składniki żywności. Proces ten zapewnia skuteczną ochronę substancji czynnej przed utlenianiem, parowaniem czy migracją w żywności. Ponadto odgrywa on główną rolę w opracowywaniu wysokiej jakości funkcjonalnych składników żywności o ulepszonych właściwościach fizycznych i praktycznych, prowadząc do uzyskania nowych produktów funkcjonalnych. Wybór materiału powlekającego oraz techniki procesu mikrokapsułkowania jest niezwykle ważny i wpływa istotnie na późniejsze zastosowania produktu jako dodatku funkcjonalnego.

Dotychczas omawiana technika pozwoliła na skuteczne zamknięcie wielu różnych materiałów aktywnych, takich jak lipidy, białka, witaminy i minerały, enzymy i aromaty. Mikrokapsułki uwalniają swoją zawartość z żądaną szybkością i czasem przez różne mechanizmy uwalniania, które zapewniają szerokie zastosowanie składników żywności, poprawiając tym samym opłacalność dla jej producenta.

Pomimo szerokiego zakresu zastosowania produktów kapsułkowanych w przemyśle farmaceutycznym i kosmetycznym produkty mikrokapsułkowane stosunkowo rzadko znajdują zastosowanie w przemyśle spożywczym. Technologia mikrokapsułkowania nie jest jeszcze powszechnie stosowanym narzędziem w przemyśle spożywczym, mimo że, jak wykazano, może posłużyć do efektywnego opracowywania zdrowych i nowatorskich produktów spożywczych. Sytuacja ta może się poprawić dzięki multidyscyplinarnemu podejściu badawczemu oraz uwzględnieniu wymagań i ograniczeń przemysłowych w badaniach podstawowych.

## Bibliografia

- Abd Manaf M., Jai J., Raslan R., Subuki I., Mustapa A.J., 2015. Microencapsulation methods of volatile essential oils – a review. *Adv. Mater. Res.* 1113, 679–683.
- Aliakbarian B., Sampaio F.C., de Faria J.T., Pitangui C.G., Lovaglio F., Casazza A.A., Converti A., Peregó P., 2018. Optimization of spray drying microencapsulation of olive pomace polyphenols using response surface methodology and artificial neural network. *LWT – Food Sci. Technol.* 93, 220–228.
- Arenas-Jal M., Suñé-Negre J.M., García-Montoya E., 2020. An overview of microencapsulation in the food industry: opportunities, challenges, and innovations. *Eur. Food Res. Technol.* 246(7): 1371–1382.
- Bochnak-Niedźwiecka J., Szymanowska U., Świeca M., 2020. Studies on the development of vegetable-based powdered beverages – effect of the composition and dispersing temperature on potential bioaccessibility of main low-molecular antioxidants and antioxidant properties. *LWT – Food Sci. Technol.* 131, 109822.
- Eduardo P.C., Emmanuel V.F.J., 2018. Encapsulation of food active ingredients in liposome. *J. Nutr. Health Food Eng.* 8(3), 238–239.

- Jeyakumari A., Zynudheen A.A., Parvathy U., 2016. Microencapsulation of bioactive food ingredients and controlled release – a review. *Food Process. Technol.* 2(6), 214–224.
- Lau, T.C., Chan M.W, Tan H.P., Kwek C.L., 2012. Functional food: a growing trend among the health conscious. *Asian Soc. Sci.* 9(1), 198–208.
- Nazzaro F., Orlando P., Fratianni F., Coppola R., 2012. Microencapsulation in food science and biotechnology. *Curr. Opin. Biotechnol.* 23(2), 182–186.
- Nizori A., Bui L., Jie F., Small D., 2020. Spray-drying microencapsulation of ascorbic acid: impact of varying loading content on physicochemical properties of microencapsulated powders. *J. Sci. Food Agric.* 100(11), 4165–4171.
- Pang G., Xie J., Chen Q., Hu Z., 2012. How functional foods play critical roles in human health. *Food Sci. Hum. Wellness* 1(1), 26–60.
- Peanparkdee M., Iwamoto S., Yamauchi R., 2016. Microencapsulation: a review of applications in the food and pharmaceutical industries. *Rev. Agric. Sci.* 4, 56–65.
- Przybysz M., Dłużewska E., Korszeń M., 2012. Wpływ rodzaju nośnika na trwałość przechowalniczą naturalnego  $\beta$ -karotenu mikro kapsułkowanego metodą suszenia rozpyłowego. *ŻNTJ* 5(84), 84–98.
- Ruiz Canizales J., Velderrain-Rodríguez G.R., Domínguez Avila J.A, Preciado Saldaña J.A., Alvarez-Parrilla E., Vilegas Ochoa M.A., González Aguilar G.A., 2019. Encapsulation to Protect Different Bioactives to Be Used as Nutraceuticals and Food Ingredients. W: *Bioactive Molecules in Food. Reference Series in Phytochemistry*, J.-M. Mérillon, K.G. Ramawat (red.). Springer, Cham., 2163–2182.
- Speranza B., Petrucci L., Bevilacqua A., Gallo M., Campaniello D., Sinigaglia M., Corbo M.R., 2017. Encapsulation of active compounds in fruit and vegetable juice processing: current state and perspectives. *J. Food Sci.* 82(6), 1291–1301.
- Subramani T., Ganapathyswamy H., 2020. An overview of liposomal nano-encapsulation techniques and its applications in food and nutraceutical. *J. Food Sci Technol.* 57(10), 3545–3555.



Justyna Ciec ko<sup>1</sup>, Adrianna Romańska<sup>1</sup>, Marek Kowalczyk<sup>1</sup>, Piotr Domaradzki<sup>1</sup>,  
Monika K dzierska-Matysek<sup>1</sup>, Anna Teter<sup>1</sup>, Piotr Sk lecki<sup>1</sup>, Mariusz Florek<sup>1</sup>,  
Ma gorzata Dmoch<sup>1</sup>, Micha  Kondraciuk<sup>1</sup>

## **Ocena profilu kwasów tłuszczowych olejów roślinnych wykorzystywanych w żywieniu czlowieka i kosmetyce**

Assessment of the fatty acid profile of vegetable oils used in human nutrition  
and cosmetology

Żywienie jest czynnikiem mającym kluczowe znaczenie dla prawidłowego rozwoju i funkcjonowania całego organizmu. Wraz z żywnością dostarczane są substraty do produkcji energii, jak też liczne substancje pełniące funkcje m.in. strukturalne czy regulacyjne. Jednymi z podstawowych składników pokarmowych są tłuszcze, które stanowi  skoncentrowane Źródło energii dla ludzkiego ciała, a także Źródło wielonienasyconych kwasów tłuszczowych (PUFA – *polyunsaturated fatty acids*), witamin A, D, E, K oraz steroli [Aranceta i Perez-Rodrigo 2012].

Wl aciwosci biologiczne i wplyw tłuszczów na organizm zależy w dużej mierze od profilu występujących w nich kwasów tłuszczowych. Kwasy tłuszczowe (KT) dzieli się z uwagi na rodzaj i liczb  podwójnych wi za n na: nasycone (SFA – *saturated fatty acids*, niezawierające podwójnych wi za n między atomami węgla w cząsteczce), jednonienasycone (MUFA – *monounsaturated fatty acids*) oraz polienowe kwasy tłuszczowe (PUFA), zawierające więcej niż jedno podwójne wiązanie, które z kolei dzieli się na kwasy n-3 oraz n-6 w zależności od położenia pierwszego z nich (licząc od metylowego końca łańcucha węglowego) [Julibert i in. 2019].

Tłuszcze roślinne zajmuj  ważne miejsce w piramidzie zdrowego żywienia m.in. ze względu na obecno c kwasów PUFA, w tym tzw. NNKT – niezbędnych nienasyconych kwasów tłuszczowych, które są konieczne do prawidłowego rozwoju oraz utrzymania dobrego stanu zdrowia. W obrębie NNKT szczególne znaczenie mają kwasy C18:3 n-3 i C18:2 n-6, które wspierają pracę serca, mózgu, narządu wzroku, mają korzystny wplyw na stan cery oraz wzmocnienie kości i zwiększenie odporności organizmu [Dutkowska i Rachoń 2015, Julibert i in. 2019].

Profil lipidowy tłuszczów, w związku ze zr znicowanymi wl aciwosciami i wielokierunkowym działaniem, stanowi obiekt bada n nie tylko w dietetyce, ale też w kosmologii. W recepturach kosmetyków tłuszcze – zwi szcza roślinne – mogą pełniąc funkcj  zarówno surowców bazowych, jak i składników aktywnych. Tłuszcze roślinne wchodz  w skład podłoża kremów, emulsji, maseczek, mleczek kosmetycznych, maści, odżywek do włosów, płynów do kąpieli, szamponów i mydeł leczniczych, które wykazują działanie pielęgnacyjne i regeneracyjne na skórę [Chrz stek i in. 2016].

---

<sup>1</sup> Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, Wydział Nauk o Zwierzętach i Biogospodarki  
marek.kowalczyk@up.lublin.pl

Celem niniejszej pracy było porównanie profilu kwasów tłuszczowych pięciu tłoczonych na zimno olejów roślinnych oraz omówienie roli i znaczenia tłuszczów roślinnych w żywieniu człowieka i kosmetologii.

## Material i metody

Oceniono pięć olejów roślinnych tłoczonych na zimno: lniany, z pestek dyni, z ostropestu, z krokosza oraz rzepakowy. Surowce do produkcji olejów otrzymano od krajowych dostawców z wyjątkiem owoców z krokosza, które pochodziły z upraw indyjskich. Nasiona przed tłoczeniem nie były prażone, a ich przechowywanie nie trwało dłużej niż trzy miesiące. Oleje zostały wytłoczone w okresie do dwóch tygodni przed rozpoczęciem badań, a następnie do momentu wykonania analiz były przechowywane w lodówce, w ciemnych butelkach o objętości 250 ml. Dla każdego rodzaju oleju zakupiono po trzy butelki. Zawarte w olejach kwasy tłuszczowe przeprowadzano w estry metylowe (FAME – *fatty acid methyl esters*) zgodnie z normą PN-EN ISO 12966-2:2011. Rozdział FAME przeprowadzano techniką chromatografii gazowej (GC – *gas chromatography*) wg PN-EN ISO 12966-01/AC przy użyciu chromatografu Varian CG 3900 (WalnutCreek, CA USA) z detektorem płomieniowo-jonizacyjnym (FID – *flame ionisation detector*).

Identyfikację kwasów tłuszczowych prowadzono przez porównanie czasów retencji poszczególnych FAME obecnych w próbce z czasami retencji wzorców estrów metylowych kwasów tłuszczowych (Sigma, Lipid Standard). Uzyskane wyniki wyrażano w postaci udziału procentowego poszczególnych KT w całkowitej liczbie zidentyfikowanych kwasów tłuszczowych.

## Wyniki

Wszystkie badane oleje wykazywały niską zawartość KT o konfiguracji *trans* (TFA – *trans fatty acids*). Udział TFA utrzymywał się na poziomie od 0,03% w oleju rzepakowym do 0,23% w oleju lnianym. Nasycone KT (SFA) stanowiły od 7,21% w oleju rzepakowym do 18,25% w oleju z pestek dyni. W ocenianych olejach wśród SFA dominował kwas palmitynowy C16:0, którego najwięcej było w oleju z pestek dyni (11,75%). W oleju z ostropestu, w porównaniu z pozostałymi olejami, stwierdzono ponadto istotnie wyższy udział kwasu C20:0 oraz C22:0 (tab. 1).

Najwyższy ( $p < 0,05$ ) udział MUFA wykazano w oleju rzepakowym (67,13%), a najniższy w oleju z krokosza (12,83%). Wśród MUFA dominował kwas oleinowy C18:1 n-9, którego najwyższy poziom oznaczono w oleju rzepakowym (62,48%) i oleju z pestek dyni (37,55%). W pozostałych olejach jego udział był znacznie niższy i wynosił odpowiednio od 23,22% w oleju z ostropestu do 11,9% w oleju z krokosza (tab. 1).

Udział PUFA we wszystkich badanych olejach utrzymywał się na poziomie od 25,63% w oleju rzepakowym, poprzez 43,26% – z pestek dyni, 58,37% – z ostropestu, 68,97% – lnianym do 77% w oleju z krokosza, a wykazane różnice zostały potwierdzone statystycznie na poziomie  $p < 0,05$  (tab. 1). W trzech olejach (z krokosza, ostropestu i pestek dyni) największy wpływ na sumaryczny udział PUFA miał kwas linolowy

(LA – *linoelic acid*) C18:2 n-6. Jego najbogatszym źródłem był olej z krokosza (76,74%;  $p < 0,05$ ), następnie olej z ostropestu (57,59%) oraz olej z pestek dyni (43,01%). Najmniej ( $p < 0,05$ ) kwasów n-6 wykazano w oleju lnianym (przeciętnie 14,87%) oraz rzepakowym (18,06%).

Najlepszym źródłem kwasów n-3 były olej lniany, który w swym składzie zawierał 54,08% kwasu  $\alpha$ -linolenowego (ALA – *alpha lipoic acid*) oraz olej rzepakowy (7,52% kwasu ALA),  $p < 0,05$ . W pozostałych trzech badanych olejach zawartość ALA była niższa i nie przekraczała 1%. Oleje lniany i rzepakowy charakteryzowały się najkorzystniejszym stosunkiem kwasów n-6 do n-3, wynoszącym odpowiednio 0,28 i 2,41 (tab. 1).

Tabela 1. Profil oraz udział najważniejszych kwasów tłuszczowych (jako procent sumy KT) w ocenianych olejach roślinnych (wartość średnia  $\pm$  odchylenie standardowe)

Wyszczególnienie	Badane oleje				
	lniany	z pestek dyni	z krokosza	z ostropestu	rzepakowy
$\Sigma$ SFA	9,86 <sup>b</sup> $\pm$ 0,03	18,25 <sup>d</sup> $\pm$ 0,09	10,06 <sup>b</sup> $\pm$ 0,02	16,76 <sup>c</sup> $\pm$ 0,04	7,21 <sup>a</sup> $\pm$ 0,03
C16:0	5,49 <sup>b</sup>	11,75 <sup>e</sup>	6,43 <sup>c</sup>	7,97 <sup>d</sup>	4,18 <sup>a</sup>
C18:0	3,94 <sup>c</sup>	5,71 <sup>e</sup>	2,80 <sup>b</sup>	4,13 <sup>c</sup>	1,85 <sup>a</sup>
C20:0	0,12 <sup>a</sup>	0,37 <sup>b</sup>	0,32 <sup>b</sup>	2,17 <sup>d</sup>	0,51 <sup>c</sup>
C22:0	0,09 <sup>a</sup>	0,08 <sup>a</sup>	0,19 <sup>b</sup>	1,73 <sup>c</sup>	0,24 <sup>b</sup>
$\Sigma$ MUFA	20,94 <sup>b</sup> $\pm$ 0,02	38,43 <sup>d</sup> $\pm$ 0,02	12,83 <sup>a</sup> $\pm$ 0,02	24,80 <sup>c</sup> $\pm$ 0,03	67,13 <sup>e</sup> $\pm$ 0,02
C18:1 n-9	20,05 <sup>b</sup>	37,55 <sup>c</sup>	11,90 <sup>a</sup>	23,22 <sup>d</sup>	62,48 <sup>e</sup>
C18:1 c11	0,65 <sup>b</sup>	0,66 <sup>b</sup>	0,54 <sup>a</sup>	0,54	2,74 <sup>c</sup>
$\Sigma$ TFA	0,23 <sup>d</sup> $\pm$ 0,01	0,06 <sup>b</sup> $\pm$ 0,03	0,10 <sup>c</sup> $\pm$ 0,03	0,07 <sup>c</sup> $\pm$ 0,02	0,03 <sup>a</sup> $\pm$ 0,03
$\Sigma$ PUFA	68,97 <sup>d</sup> $\pm$ 0,03	43,26 <sup>b</sup> $\pm$ 0,10	77,00 <sup>e</sup> $\pm$ 0,06	58,37 <sup>c</sup> $\pm$ 0,01	25,63 <sup>a</sup> $\pm$ 0,03
$\Sigma$ n-3	54,08 <sup>d</sup> $\pm$ 0,01	0,19 <sup>a</sup> $\pm$ 0,01	0,18 <sup>a</sup> $\pm$ 0,01	0,74 <sup>b</sup> $\pm$ 0,02	7,52 <sup>c</sup> $\pm$ 0,01
C18:3 n-3 ALA	54,03 <sup>d</sup>	0,19 <sup>a</sup>	0,18 <sup>a</sup>	0,74 <sup>b</sup>	7,52 <sup>c</sup>
$\Sigma$ n-6	14,87 <sup>a</sup> $\pm$ 0,02	43,01 <sup>c</sup> $\pm$ 0,09	76,75 <sup>e</sup> $\pm$ 0,06	57,63 <sup>d</sup> $\pm$ 0,02	18,06 <sup>b</sup> $\pm$ 0,02
C18:2 n-6 LA	14,87 <sup>a</sup>	42,98 <sup>c</sup>	76,74 <sup>e</sup>	57,59 <sup>d</sup>	18,06 <sup>b</sup>
n6/n3	0,28 <sup>a</sup>	228,36 <sup>d</sup>	415,50 <sup>e</sup>	78,07 <sup>c</sup>	2,41 <sup>b</sup>

Wartości średnie w wierszach oznaczone różnymi literami różnią się statystycznie istotnie: a, b, c, d, e –  $p < 0,05$ ; SFA (*saturated fatty acids*) – nasycone kwasy tłuszczowe; MUFA (*monounsaturated fatty acids*) – jednonienasycone kwasy tłuszczowe; TFA (*trans fatty acids*) – kwasy tłuszczowe konfiguracji *trans*; PUFA (*polyunsaturated fatty acids*) – wielonienasycone kwasy tłuszczowe; n6/n3 – stosunek kwasów n-6 do n-3

Według FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations) zapotrzebowanie na kwas C18:3 n-3 ALA powinno stanowić nie mniej niż 0,5% dziennego zapotrzebowania energetycznego. Taka ilość może być dostarczona już przy spożyciu 0,2 łyżki stołowej oleju lnianego oraz 1,6 łyżki stołowej oleju rzepakowego (tab. 2). Rekomendowane przez FAO zapotrzebowanie na C18:2 n-6 LA powinno stanowić od 2,5% do 3% dziennego zapotrzebowania na energię.

Najlepszym źródłem tego kwasu, jak już wcześniej wspomniano, jest olej z krokosza – już niespełna jedna łyżka stołowa tego oleju pokrywa dzienne zapotrzebowanie na LA. Oleju lnianego i rzepakowego, ze względu na najmniejszą spośród badanych olejów zawartość kwasu LA, należy spożyć najwięcej, tj. odpowiednio 4–5 i 3–4 łyżki dziennie. Spożywanie takiej ilości oleju lnianego oraz rzepakowego zapewnia w 100% pokrycie zapotrzebowania na kwasy C18:2 n-6 LA oraz C18:3 n-3 ALA (tab. 2).

Tabela 2. Zawartość ALA i LA (średnia  $\pm$  odchylenie standardowe) oraz ilość olejów pokrywająca rekomendowane dzienne zapotrzebowanie na te kwasy

Zawartość kwasu (g/100 g oleju)		Udział proc. energii z diety zalecany przez FAO	Dzienne spożycie (g) dla diety 2000 kcal	Badane oleje				
				lniany	z pestek dyni	z krokosza	z ostropestu	rzepakowy
ALA		>0,5	>1,11	C18:3 n-3 ALA				
				51,14 $\pm$ 0,02	0,18 $\pm$ 0,01	0,18 $\pm$ 0,01	0,70 $\pm$ 0,02	7,12 $\pm$ 0,01
Ilość oleju	g			>2,17	>623,35	>635,51	>159,03	>15,61
	ml			>2,39	>685,00	>698,37	>174,76	>17,15
	łyżka stołowa	>0,2	>62	>63	>16	>1,6		
LA		2,5–3,0	5,56–6,67	C18:2 n-6 LA				
				14,08 $\pm$ 0,02	40,68 $\pm$ 0,10	72,63 $\pm$ 0,06	54,51 $\pm$ 0,01	17,10 $\pm$ 0,02
Ilość oleju	g			39,47–47,36	13,66–16,39	7,65–9,18	10,19–12,23	32,49–38,99
	ml			43,37–52,05	15,01–18,01	8,41–10,09	11,20–13,44	35,71–42,85
	łyżka stołowa	4–5	1,4–1,6	0,8–0,9	1,0–1,2	3–4		

### Znaczenie substancji bioaktywnych z olejów roślinnych w żywieniu i kosmetologii

Tłuszcze w codziennej diecie powinny pokrywać przeciętnie 20–30% zapotrzebowania energetycznego organizmu człowieka [Ciborowska i Rudnicka 2007]. Ich prawidłowa podaż w diecie jest ważna ze względu na wielokierunkowe działanie kwasów tłuszczowych.

Jedną z zalet spożywania tłuszczów roślinnych jest dostarczenie organizmowi NNKT należących do rodziny kwasów n-3 i n-6. Kwasy n-3 i n-6 wykazują działanie

m.in. przeciwwytmiczne, przeciwmiażdżycowe, kardioprotekcyjne oraz przeciwzapalne. Udowodniono, że suplementacja kwasami tłuszczowymi n-3 prowadzi do wzrostu poziomu PGI – prostacykliny, która hamuje agregację płytek, rozszerza naczynia wieńcowe i zwiększa siłę skurczu mięśnia sercowego [Dutkowska i Rachoń 2015]. Z kolei jedną z głównych funkcji kwasów n-6 jest przeciwdziałanie miażdżycy, cukrzycy i obniżanie ciśnienia tętniczego [Łoźna i in. 2012].

W żywieniu człowieka szczególnie ważna jest proporcja kwasów tłuszczowych n-6 do n-3, która w zależności od źródła danych powinna wynosić od 2,5:1 do 5:1 [Marciniak-Łukasiak 2011, Łoźna i in. 2012]. W przeciętnym sposobie odżywiania społeczeństw krajów rozwiniętych proporcja ta odbiega jednak znacznie od prawidłowej i wynosi około 15–30:1 [Gomez-Candela i in. 2011, Materac i in. 2013]. Zaburzenie równowagi spożycia KT n-6 do n-3 może mieć niekorzystny wpływ na organizm, ponieważ kwasy te konkurują o te same enzymy i w części procesów wykazują działanie antagonistyczne. Dlatego też najważniejsze jest odpowiednie zbilansowanie ilości obu grup kwasów tłuszczowych w dziennej podaży. Powstanie większej ilości pochodnych kwasów z rodziny n-6 skutkuje ryzykiem wystąpienia stanów zapalnych, zachwianiem równowagi immunologicznej i homeostazy ustroju. Z powodu niezbilansowanej proporcji n-6 do n-3 oraz zbyt wysokiego spożycia tłuszczów nasyconych mogą rozwinąć się takie choroby jak nieswoiste zapalenie jelit, choroby układu krążenia czy cukrzyca [Materac i in. 2013, Scaiola i in. 2017].

Podstawowym przedstawicielem grupy KT n-3 jest kwas  $\alpha$ -linolenowy (C18:3 n-3; ALA). Źródłem tego kwasu jest m.in. olej lniany, który ma blisko 50% ogólnej zawartości KT (w badaniach własnych uzyskano 54%); zaraz za nim jest olej rzepakowy – około 9% (7,52% w badaniach własnych), i sojowy – 6% [Materac i in. 2013]. Korzystne działanie kwasów tłuszczowych n-3 polega na redukcji stężenia trójglicerydów w osoczu krwi poprzez hamowanie ich resyntezy w ścianie jelit i wątrobie. Przedstawicielami kwasów syntezowanych z kwasu ALA są kwasy EPA (eikozapentaenowy) C20:5 n-3 i DHA (dokozaheksaenowy) C22:6 n-3. Kwas DHA jest niezbędny dla prawidłowego funkcjonowania układu nerwowego, wykorzystywany jest do budowy neurotransmiterów, w tym serotoniny i dopaminy. Niski poziom DHA negatywnie wpływa na pamięć, gospodarkę hormonalną i wzrok, dlatego ten kwas jest stosowany w profilaktyce wielu chorób, m.in. nadciśnienia, chorób serca, miażdżycy lub przy spowalnianiu rozwoju choroby Alzheimera czy choroby Parkinsona [Marciniak-Łukasiak 2011]. Z kolei EPA warunkuje prawidłową syntezę eikozanoidów, które są odpowiedzialne za działanie przeciwzakrzepowe i przeciwzapalne. Powstrzymują rozwój guzów nowotworowych oraz ograniczają kurczliwość naczyń krwionośnych [Mińkowski i in. 2011].

Wykorzystanie tłuszczów roślinnych nie ogranicza się wyłącznie do żywienia człowieka. Ze względu na właściwości są one również chętnie stosowane w przemyśle kosmetycznym. Tłuszcze roślinne – w przeciwieństwie do zwierzęcych, które zawierają głównie nasycone i mononienasycone KT [Chrząsek 2015] – są dobrym źródłem wielonienasyconych kwasów tłuszczowych. Przykładem kwasu tłuszczowego istotnego z perspektywy kosmetologii jest wspomniany wcześniej kwas linolowy (LA), który odgrywa znaczącą rolę w utrzymaniu dobrej kondycji skóry. W stanach nadmiernego jej odwodnienia stabilizuje metabolizm, zmniejsza przeznaskórkową utratę wody (TEWL – *transepidermal water loss*) oraz wpływa na stan bariery lipidowej na powierzchni naskórka. Przy cerze tłustej i problematycznej kwas linolowy pomaga ograniczyć powstawanie zaskórników oraz normalizuje pracę gruczołów łojowych. Oleje bogate w ten związek wykazują niską komedogenność, przez co są szczególnie ważne w pielęgnacji każdego rodzaju cery [Zielińska i Nowak 2014].

Kwasy tłuszczowe n-3, w szczególności EPA i DHA, hamują negatywne skutki poparzeń słonecznych, łagodzą podrażnienia oraz wpływają na stymulację procesów naprawczych. Ponadto redukują działanie substancji prozapalnych wydzielanych pod wpływem promieniowania ultrafioletowego [Bojarowicz i Woźniak 2008]. Kwasy NNKT pobudzają w skórze syntezę prekursorów naturalnego czynnika nawilżającego (NMF – *natural moisturizing factor*), tj. białek oraz lipidów barierowych skóry, a także same wchodzi w skład jej płaszcza lipidowego [Zielińska i Nowak 2014]. Kwasy te odpowiadają m.in. za utrzymanie lekko kwaśnego pH skóry, które oprócz cementu międzykomórkowego połączonego z NMF stanowi dodatkową barierę ochronną przed niekorzystnym wpływem czynników środowiskowych [Białek i Rutkowska 2015].

Niezbędne nienasycone kwasy tłuszczowe należy dostarczać skórze wraz z aplikowanymi na jej powierzchnię kosmetykami. Bogate w te kwasy są oleje roślinne, w tym rokitnikowy. Olej pozyskiwany z nasion zawiera duże ilości kwasów n-6, n-3 oraz palmitynowego. Olej z pulpy charakteryzuje się dużą zawartością kwasów tłuszczowych z grupy n-7. W tej grupie KT szczególną uwagę należy zwrócić na kwas palmitynooleinowy, występujący w omawianym oleju w dużym stężeniu, ponieważ jest on naturalnym składnikiem lipidów skóry [Resich-Kozieł i Niemyska 2020]. W oleju z nasion rokitnika występują również w mniejszych ilościach kwasy: wakcenyowy, arachidonowy i eikosenowy, a także przeciwzapalne sterole, karotenoidy i tokoferole [Boško i Biel 2017]. Z uwagi na dużą zawartość kwasów tłuszczowych olej rokitnikowy wykorzystywany jest przy pielęgnacji skóry ze zmarszczkami, narażonej na utratę jędrności i elastyczności, a także ze skłonnością do powstawania przebarwień [Resich-Kozieł i Niemyska 2020].

Kwasy tłuszczowe odgrywają istotną rolę w utrzymaniu prawidłowej kondycji skóry, co jest potwierdzone przez objawy ich niedoborów. Najczęściej są to zaburzenia keratynizacji skóry oraz zwiększone tempo utraty wody przez naskórek [Zielińska i Nowak 2014]. Niedobór kwasów n-3 oraz n-6 objawia się łamliwością paznokci, wzmożonym wypadaniem włosów oraz łuszczącą się i suchą skórą [Wydro 2012]. Obniżony poziom wielonienasyconych kwasów tłuszczowych u młodzieży wpływa na powstawanie zaskórników oraz stanów zapalnych skóry prowadzących do trądziku. Niedobór kwasów tłuszczowych może być także związany z dermatozami. Delta-6-desaturaza jest enzymem działającym na kwas linolowy podczas szlaku jego przemian metabolicznych. Produktem tej reakcji jest kwas  $\gamma$ -linolenowy należący do kwasów z grupy n-6. Niedobór  $\delta 6$ -desaturazy oraz ceramidów wchodzących obok fosfolipidów w skład cementu międzykomórkowego występuje w atopowym zapaleniu skóry [Bojarowicz i Woźniak 2008]. Z kolei sam kwas  $\gamma$ -linolenowy jest prekursorem prostaglandyny E1 (PGE1), która odpowiada za prawidłowy rozwój, strukturę komórek oraz zachodzące w nich zmiany metaboliczne [Chrzastek i in. 2015]. Kwas ten jest także głównym kwasem tłuszczowym ceramidów obecnych w warstwie rogowej skóry. Jego niedobór prowadzi zatem do uszkodzenia warstwy lipidowej przy keratynocytach, co zaburza funkcję barierową skóry [Białek i Rutkowska 2015].

## Podsumowanie

Tłuszcze roślinne i zawarte w nich nienasycone kwasy tłuszczowe odgrywają istotną rolę w żywieniu człowieka oraz w pielęgnacji i utrzymaniu odpowiedniego stanu cery. W badanych olejach roślinnych potwierdzono wysoki udział nienasyconych kwasów tłuszcz-

czowych, w tym z rodziny n-3 i n-6. Tym samym oleje te mogą być wartościowym uzupełnieniem codziennej diety oraz istotnym elementem w profilaktyce chorób cywilizacyjnych, jak również stanowić cenny surowiec dla przemysłu kosmetycznego. Spośród ocenianych olejów roślinnych najbardziej efektywne pod względem pokrycia rekomendowanego zapotrzebowania zarówno na kwas ALA, jak i LA mogą być oleje lniane i rzepakowy.

## Bibliografia

- Aranceta J., Pérez-Rodrigo C., 2012. Recommended dietary reference intakes, nutritional goals and dietary guidelines for fat and fatty acids: a systematic review. *Br. J. Nutr.* 107(S2), 8–22. <https://doi.org/10.1017/S0007114512001444>
- Białek M., Rutkowska J., 2015. Znaczenie kwasu  $\gamma$ -linolenowego w profilaktyce i terapii. *Adv. Hyg. Exp. Med.* 69, 892–904.
- Bojarowicz H., Woźniak B., 2008. Wielonienasycone kwasy tłuszczowe oraz ich wpływ na skórę. *Probl. Hig. Epidemiol.* 89(4), 471–447.
- Boško P., Biel W., 2017. Właściwości lecznicze rokitnika zwyczajnego (*Hippophaë rhamnoides* L.). *Post. Fitoter.* 18(1), 36–41.
- Chrząstek L., Dondela B., Deska M., 2015. Bezpieczne składniki kosmetyków – lipidy i ich pochodne. *Prace naukowe, t. III. Wyd. im. Stanisława Podobińskiego Akademii im. Jana Długosza w Częstochowie*, 9–27. <https://doi.org/10.16926/tiib.2015.03.01>
- Ciborowska H., Rudnicka A., 2007. *Żywienie zdrowego i chorego człowieka*. Wyd. Lekarskie PZWL, Warszawa.
- Dutkowska A., Rachoń D., 2015. Rola kwasów tłuszczowych n-3 oraz n-6 w prewencji chorób układu sercowo-naczyniowego. *Chor. Serca i Nacz.* 12(3), 154–159.
- Gómez-Candela CG, Bermejo López LM, Kohen VL., 2011. Importance of a balanced omega 6/omega 3 ratio for the maintenance of health. *Nutritional recommendations. Nutr. Hosp.* 26(2), 323–329. <https://doi.org.10.3305/nh.2011.26.2.5117>
- Julibert A., del Mar Bibiloni M., Tur J.A., 2019. Dietary fat intake and metabolic syndrome in adults: a systematic review. *Nutr. Metab. Cardiovasc. Dis.* 29(9), 887–905. <https://doi.org/10.1016/j.numecd.2019.05.055>
- Łoźna K., Kita A., Styczyńska M., Biernat J., 2012. Skład kwasów tłuszczowych olejów zalecanych w profilaktyce chorób cywilizacyjnych. *Probl. Hig. Epidemiol.* 93(4), 871–875.
- Marciniak-Łukasiak K., 2011. Rola i znaczenie kwasów tłuszczowych omega-3. *ŻNTJ.* 6(79), 24–35.
- Materac E., Marczyński Z., Bodek K.H., 2013. Rola kwasów tłuszczowych omega-3 i omega-6 w organizmie człowieka. *Bromat. Chem. Toksykol.* 46(2), 225–233.
- Mińkowski K., Grzeškiewicz S., Jerezwska M., 2011. Ocena wartości odżywczej olejów roślinnych o dużej zawartości kwasów linolenowych na podstawie składu kwasów tłuszczowych, tokoferoli i steroli. *ŻNTJ.* 2(75), 124–135.
- Resich-Kozieł L., Niemyska K., 2020. Zastosowanie oleju z rokitnika w kosmologii, *Kosmetol. Estet.* 2(9), 187–191.
- Scaioli E., Liverani E., Belluzzi A., 2017. The imbalance between n-6/n-3 polyunsaturated fatty acids and inflammatory bowel disease: a comprehensive review and future therapeutic perspectives. *Int. J. Mol. Sci.* 18(12), 2619. <https://doi.org/10.3390/ijms18122619>
- Wydro D., 2012. Kwasy omega 3 i 6 w medycynie i kosmologii. Wpływ doustnej suplementacji kwasami omega-3 i 6 na kondycję skóry – badanie pilotażowe. *AAAAM.* 4, 46–54.
- Zielińska A., Nowak I., 2014. Kwasy tłuszczowe w olejach roślinnych i ich znaczenie w kosmetyce, *Chemik.* 68(2), 103–111.

## **Substancje pochodzenia mikrobiologicznego wykorzystywane w przemyśle kosmetycznym**

Substances of microbiological origin used in the cosmetics industry

Mikroorganizmy są stale obecne w otoczeniu człowieka, a produkty ich metabolizmu wykorzystuje się na wiele sposobów. Ze względu na ciągłą chęć rozwoju i doskonalenia przemysł kosmetyczny poszukuje nowych rozwiązań i zastosowań substancji naturalnych, w tym pochodzenia mikrobiologicznego. Badania z wykorzystaniem tych ostatnich mają na celu m.in. zastąpienie substancji syntetycznych. W niniejszej pracy przedstawiono przegląd badań na temat produktów pochodzenia mikrobiologicznego, takich jak: ksantan, alginian, toksyna botulinowa oraz biosurfaktanty.

### **Polisacharydy bakteryjne**

Wiele gatunków bakterii ma zdolność wytwarzania biopolimerów, tzw. egzo- oraz endopolisacharydów, lub biofilmu. W zależności od gatunku bakterii biopolimery te wykazują różne właściwości. Endopolisacharydy to m.in. polisacharydy, nieorganiczne anhydrydy (polifosforany), poliestry oraz poliamidy. Do grupy egzopolisacharydów należą ksantan (guma ksantanowa) oraz alginian. Polisacharydy ułatwiają adhezję komórki bakteryjnej do podłoża, chronią przed fagocytozą i wysuszeniem [Nwodo i in. 2012], a także antybiotykami [Ruas-Madiedo i in. 2002].

Bakterie kwasu mlekowego *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* są zdolne do wytwarzania egzopolisacharydu, który zaburza połączenia miceli kazeinowych z maitrycą. Powoduje to wytworzenie wolnej przestrzeni pomiędzy cząsteczkami polisacharydu, co umożliwia związaną przez niego większą ilość cząsteczek wody [Ruas-Madiedo i in. 2002]. Właściwości te mogą być wykorzystane w kremach lub balsamach na bazie oleju.

### **Ksantan**

Bakterie z rodzaju *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* B100 wytwarzają egzopolisacharyd – ksantan. W szlaku syntezy ksantanu kluczową rolę odgrywają białka kodowane przez klaster 12 genów. Synteza jednostki budulcowej ksantanu zachodzi na wewnętrznej błonie cytoplazmatycznej. Tworzenie ksantanu polega na przyłączaniu (polimeryzacji) podjednostek pentasacharydowych. Gotowy produkt jest transportowany na

---

<sup>1</sup> Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, Wydział Agrobiotechnologii, SKN Analityków Środowiska

<sup>2</sup> Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, Wydział Agrobiotechnologii, Katedra Mikrobiologii Środowiskowej, kamila.rybczynska-tkaczyk@up.lublin.pl



zewnątrz komórki bakteryjnej. W celu zwiększenia wydajności procesu produkcji ksantanu bakteriom z rodzaju *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* B100 należy zapewnić odpowiednie warunki, jakimi są ograniczone źródła węglowe oraz pH wynoszące 7. Ponadto należy stale kontrolować napowietrzenie w trakcie biosyntezy polisacharydu [Nichols i in. 2005, Samaszko-Fiertek i in. 2016].

W celu uzyskania ksantanu należy go odseparować od komórek *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* B100 poprzez dodanie dwuwartościowego kationu wapnia  $\text{Ca}^{2+}$ , metanolu lub alkoholu izopropylowego. Na drodze modyfikacji takich jak zateżanie, izolacja i oczyszczanie z zanieczyszczeń powstaje finalny produkt, tj. guma ksantanowa [Lee 2014].

Ze względu na swoje właściwości zagęszczające guma ksantanowa jest wykorzystywana w przemyśle kosmetycznym. Z uwagi na swoje zdolności do tworzenia wysoce lepkich roztworów o jednocześnie niskich siłach ścinających guma ta znalazła zastosowanie jako stabilizator i zagęstnik emulsji na bazie wody. Roztwór gumy ksantanowej jest stabilny w szerokim zakresie stężeń (1–150 g/l NaCl), temperatury (do 90°C) oraz pH 2–11 i rozpuszczalny w ciepłej wodzie. Dodatek gumy ksantanowej nie wpływa na zapach oraz kolor produktów gotowych [Rosalam i England 2006]. Guma ksantanowa nie powoduje alergii oraz nie wykazuje toksyczności [Bulgheroni i in. 2009, Malik i in. 2020].

Guma ksantanowa figuruje pod nazwą INCI Xanthan Gum i można ją znaleźć w żelach do mycia ciała, twarży, szamponach, odżywkach, maskach do włosów, kremach i balsamach. Ponadto guma ta ułatwia aplikację produktu. Jej kwaśny charakter w formule kosmetycznej zapobiega wysuszeniu skóry oraz nie powoduje podrażnień [Kulawik-Pióro i Lament 2015]. Zalecane stężenie gumy ksantanowej w produktach kosmetycznych wynosi 0,5–3% [Martín-Alfonso i in. 2018].

## Alginnan

Alginnan to związek syntetyzowany przez bakterie *Pseudomonas aeruginosa*, *P. fluorescens*, *P. syringae* oraz *Azotobacter* sp. Zabezpiecza komórki bakteryjne przed niekorzystnymi warunkami środowiska, a także zwiększa adhezję kolonii bakteryjnych do podłoża [Boyd i Chakrabarty 1994].

Szlak biosyntezy alginianu jest kontrolowany przez gen *algT*, który odpowiada za ekspresję genów oraz operonów (*algB* i *algR*) biorących udział w syntezie alginianu [Grudniak i in. 2018]. Prekursorem do syntezy alginianu jest fruktozo-6-fosforan. Białko AlgE umieszczone w ścianie komórkowej stanowi miejsce transportu polimeru alginianu na zewnątrz komórki bakterii [Boyd i Chakrabarty 1994].

Lepkość roztworów alginianu jest zależna od wielkości jego cząstek. Wykazano, że średnia wielkość cząstek wynosi od 80 kDa. Alginnan sodu jest rozpuszczalny w zimnej wodzie i tworzy lepkie, koloidalne roztwory. Nie rozpuszcza się w rozpuszczalnikach organicznych, takich jak alkohol czy chloroform, oraz jest stabilny w roztworach o zakresie pH 4–10 [Sachan i in. 2009]. Do powstania żelu z alginianu niezbędny jest dodatek kationów magnezu  $\text{Mg}^{2+}$ , które łączą ze sobą nici alginianowe, tworząc zwartą, żelową strukturę. Alginnan sodu nie jest toksyczny oraz nie powoduje alergii ani podrażnień skórnych. U myszy jego medialną dawkę śmiertelną ( $\text{LD}_{50}$  – *lethal dose*) określono na poziomie <0,2 g/kg m.c. [Shilpa i in. 2003]. Ponadto jest wykorzystywany jako materiał mikrokapsulek stosowanych do transportu substancji wydzielających woń [Song i Chen 2018].

Alginian w produktach kosmetycznych występuje w postaci alginianu sodu (INCI Sodium Alginate). W przemyśle kosmetycznym wykorzystywany jest jako zagęstnik oraz stabilizator konsystencji. Ze względu na właściwości higroskopijne zapobiega odwodnieniu komórek. Tworząc żelową warstwę na powierzchni skóry, zabezpiecza ją przed podrażnieniami. Alginian sodu można znaleźć w składzie kremów do ciała, peelingach, kremach do twarzy, żelach do mycia ciała, odżywkach do rąk, szamponach oraz odżywkach do włosów [Kozłowska i in. 2019, Bociąga i in. 2019].

### **Toksyna botulinowa**

Bakterie beztlenowe Gram-dodatnie z rodzaju *Clostridium botulinum* posiadają zdolność do wytwarzania neurotoksyny botulinowej, uznanej za najniebezpieczniejszą toksynę występującą w przyrodzie [França i in. 2017]. Neurotoksyny botulinowe występują w postaci wielkocząsteczkowych kompleksów o masie około 300–900 kDa [Aoki i Guyer 2001]. Magazynowanie toksyny występuje w cytozolu komórkowym. Aktywną częścią toksyny botulinowej jest lekki łańcuch zawierający metaloproteazę [França i in. 2017]. Wyróżnić można siedem rodzajów toksyny botulinowej: A, B, C, D, E, F i G. Różnią się one powinowactwem do różnych wewnątrzkomórkowych białek, czasem działania oraz jego mocą [Aoki i Guyer 2001]. Cechą wspólną wszystkich rodzajów toksyny botulinowej jest inhibicja presynaptycznego uwalniania acetylocholiny [Dhaked i in. 2010]. Efekt inhibicji skurczów mięśni utrzymuje się tymczasowo, aż do momentu wytworzenia nowych szczelin synaptycznych. W przypadku toksyny botulinowej LD<sub>50</sub> dla człowieka wynosi 0,2–2 µg/kg m.c. [Grenda i Kwiatek 2009].

Pod okiem wykwalifikowanej osoby toksyna botulinowa może być wykorzystywana w przemyśle kosmetycznym oraz w medycynie estetycznej. Toksyna produkowana przez *Clostridium botulinum* (typ A) jest wstrzykiwana podskórnie w celu poprawienia owalu twarzy i/lub niwelacji zmarszczek mimicznych na czole, między brwiami, na szyi oraz wokół oczu [Scherer 2016]. Stosowana jest także w nadmiernej potliwości dłoni oraz stóp, ponieważ w małych dawkach paraliżuje aktywność gruczołów potowych (zahamowanie uwalniania acetylocholiny) [Zbrojkiewicz i in. 2018]. Toksyna botulinowa może być również wykorzystywana jako substancja wspomagająca nawrót skurczów mięśniowych poprzez przywrócenie obrotu pęcherzykowego w mięśniach. Ze względu na procesy biochemiczne zachodzące wewnątrz organizmu efekt działania toksyny botulinowej utrzymuje się od trzech do dziewięciu miesięcy [Aoki i Guyer 2001].

### **Biosurfaktanty pochodzenia mikrobiologicznego**

Biosurfaktanty to grupa związków powierzchniowo czynnych pochodzenia biologicznego. Charakteryzują się budową amfifilową – cząsteczki zawierają jednocześnie część hydrofilową oraz część hydrofobową. Ze względu na ładunek części hydrofilowej surfaktanty dzielone są na jonowe (kationowe, anionowe i amfoteryczne) oraz niejonowe [Paraszkiewicz i Długoński 2003]. Część hydrofilową biosurfaktantów stanowią mono- lub polisacharydy, białka bądź aminokwasy. Część lipofilowa składa się z jedno- lub kilku długołańcuchowych kwasów, hydroksykwasów tłuszczowych oraz α-alkilo-β-hydroksykwasów. Obie części większości biosurfaktantów są połączone grupą acylową bądź wiązaniem glikozydowym [Krasowska 2010].

W piśmiennictwie wyróżniono biosurfaktanty nisko- oraz wielkocząsteczkowe. Masa związków niskocząsteczkowych nie przekracza 1500 Da. Grupa ta odznacza się niską aktywnością emulgującą, a także wykazuje silną zdolność do obniżania napięcia powierzchniowego na granicy faz. Do biosurfaktantów niskocząsteczkowych należą glikolipidy (ramnolipidy, trehalozolipidy, soforolipidy) i lipopeptydy (polimyksyna, surfaktyna). Masa biosurfaktantów wielkocząsteczkowych sięga 1000 kDa. Do grupy tej należą lipoproteiny (liposan, alasan), biopolimerowe kompleksy, a także lipopolisacharydy (emulsan). W przeciwieństwie do grupy pierwszej wykazują one dobre właściwości emulgujące [Michocka 2012].

Współcześnie dąży się do zastępowania surfaktantów syntetyzowanych chemicznie ich odpowiednikami pochodzenia naturalnego – biosurfaktantami, ze względu na ich niską toksyczność, szybką biodegradację oraz zróżnicowane właściwości fizykochemiczne [Makkar i Cameotra 2002]. Wiele mikroorganizmów ma zdolność syntetyzowania biosurfaktantów, np. *Pseudomonas aeruginosa* (ramnolipidy), *Bacillus subtilis* (surfaktyna) czy *Thiobacillus thiooxidans* (fosfatydyloetanoloamina). Większość biosurfaktantów jest produkowana przez mikroorganizmy tlenowe w środowisku wodnym, przy wykorzystaniu cukrów, tłuszczu roślinnych, alkoholi czy kwasów tłuszczowych jako substratów [Hallamann 2008, Wojnowska-Baryła 2011]. Ich synteza jest związana z fazami wzrostu mikroorganizmów, które są uzależnione od warunków hodowli, zawartości składników odżywczych w podłożu, liczby komórek w medium hodowlanym oraz ilości wytwarzanych metabolitów. Biosurfaktanty są syntetyzowane wewnątrz komórek mikroorganizmów. Pełnią rolę składników odżywczych, a także umożliwiają adsorpcję genów oraz wychwycenie związków toksycznych [Van Hamme i in. 2006].

Glikolipidy są grupą najbardziej znanych biosurfaktantów. Ze względu na swoją budowę chemiczną są klasyfikowane do grupy węglowodanów połączonych z kwasami alifatycznymi o długich łańcuchach lub z kwasami hydroksyalifatycznymi. Najpopularniejszymi przykładami glikolipidów są ramnolipidy, trehalolipidy oraz soforolipidy [Bhattacharya i in. 2017].

Soforolipidy to grupa biosurfaktantów produkowanych przez drożdże rodzaju *Candida apicola*, *C. bombicola* oraz *C. gropengiesseri* [Cavallero i Cooper 2003]. Wykazują właściwości nawilżające oraz kompatybilność ze skórą. Soforolipidy występują w kosmetykach jako emulgatory, solubilizatory, środki pieniające oraz detergenty [Lourith i Kanlayavattanukul 2009]. Związki te są wykorzystywane przy produkcji dezodorantów, a także środków o działaniu przeciwlupieżowym [Rau i in. 2001]. Ponadto wywołują pozytywne zmiany skóry i włosów. Wykazano udział soforolipidów w stymulacji metabolizmu fibroblastów skórnych, a także neosyntezie kolagenu. Dodatkowo działają antyoksydacyjnie oraz hamują aktywność elastazy. Są również przydatne w zwalczaniu cellulitu, ponieważ stymulują syntezę leptyny zawartej w adipocytach, dlatego są stosowane w produkcji kosmetyków antycellulitowych [Pellecier i André 2004].

Najczęściej badaną grupą biosurfaktantów są ramnolipidy – wytwarzane przez szczepy bakterii *Pseudomonas aeruginosa*. Mają one właściwości emulgujące, a także powierzchniowo czynne. Największą stabilność wykazują przy pH 5. Ramnolipidy odznaczają się także właściwościami antymikrobiologicznymi [Nitschke i in. 2005, Lovaglio i in. 2011]. Jako składniki aktywne są niezwykle skuteczne w walce ze zmarszczkami, a także pomocne przy gojeniu się ran [Piljac i Piljac 2007]. Wykazują kompatybilność ze skórą oraz delikatne działanie [Haba i in. 2003]. Ramnolipidy są stosowane w produkcji kosmetyków przeciw-

trądzikowych, przeciwzmarszczkowych, przeciwłupieżowych, dezodorantów, a także produktów do pielęgnacji paznokci, past do zębów oraz płynów do soczewek kontaktowych czy nawet środków przeciw owadom [Maier i Soberon-Chavez 2000].

### Podsumowanie

Bakterie wykazują zdolność do wytwarzania związków takich jak ksantan, alginian, toksyna botulinowa czy biosurfaktanty. Polisacharydy bakteryjne mogą zastępować substancje wytwarzane syntetycznie. Mają właściwości zagęszczające, stabilizujące, dlatego znajdują zastosowanie w produkcji kosmetyków myjących oraz upiększających. Biosurfaktanty pochodzenia mikrobiologicznego są alternatywą dla surfaktantów syntetyzowanych chemicznie. Charakteryzują się szybką biodegradacją, niską toksycznością oraz zróżnicowanymi właściwościami fizykochemicznymi. Mogą być wykorzystywane przy produkcji środków do higieny osobistej, kosmetyków przeciwtrądzikowych, antycellulitowych, a także środków przeciw owadom.

### Bibliografia

- Aoki K., Guyer B., 2001. Botulinum toxin type A and other botulinum toxin serotypes: a comparative review of biochemical and pharmacological actions. *Eur. J. Neurol.* 8, 21–29. <https://doi.org/10.1046/j.1468-1331.2001.00035.x>
- Bociąga D., Bartniak M., Grabarczyk J., Przybyszewska K., 2019. Sodium alginate/gelatine hydrogels for direct bioprinting – the effect of composition selection and applied solvents on the bioink properties. *Materials.* 12(17), 2669. <https://doi.org/10.3390/ma12172669>
- Bhattacharya B., Ghosh T., Das N., 2017. Application of bio-surfactants in cosmetics and pharmaceutical industry. *Sch. Acad. J. Pharm.* 6, 320–329.
- Boyd A., Chakrabarty A.M., 1994. Role of alginate lyase in cell detachment of *Pseudomonas aeruginosa*. *Appl. Environ. Microbiol.* 60, 2355–2359.
- Bulgheroni A., Kinsner-Ovaskainen A., Hoffman S., Hartung T., Prieto P., 2009. Estimation of acute oral toxicity using the No Observed Adverse Effect Level (NOAEL) from the 28 day repeated dose toxicity studies in rats. *Regul. Toxicol. Pharmacol.* 53, 16–19. <https://doi.org/10.1016/j.yrtph.2008.10.001>
- Cavalero D., Cooper D., 2003. The effect of medium composition on the structure and physical state of sophorolipids produced by *Candida bombicola* ATCC 22214. *J. Biotechnol.* 103, 31–41. [https://doi.org/10.1016/S0168-1656\(03\)00067-1](https://doi.org/10.1016/S0168-1656(03)00067-1)
- Cybulska M., Jesman C., Mludzik A., Kula A., 2012. On Roman military doctors and their medical instruments. *Mil. Pharm. Med.* 2, 1–8.
- Dhaked R., Singh M., Singh P., Gupta P., 2010. Botulinum toxin: bioweapon & magic drug. *Indian J. Med. Res.* 132, 489–503.
- França K., Kumar A., Fioranelli M., Lotti T., Tirant M., Roccia M., 2017. The history of Botulinum toxin: from poison to beauty. *Wien. Med. Wochenschr.* 167, 46–48. <https://doi.org/10.1007/s10354-017-0553-7>
- Grenda T., Kwiatek K., 2009. Clostridium botulinum – charakterystyka i znaczenie epidemiologiczne. *Med. Wet.* 65, 743–746.
- Grudniak A., Klecha B., Wolska K., 2018. Effects of null mutation of the heat-shock gene htpG on the production of virulence factors by *Pseudomonas aeruginosa*. *Future Microbiol.* 13(1), 69–80. <https://doi.org/10.2217/fmb-2017-0111>

- Haba E., Pinazo A., Jauregui O., Espuny M., Infante M., Manresa A., 2003. Physicochemical characterization and antimicrobial properties of rhamnolipids produced by *Pseudomonas aeruginosa* 47T2 NCBIM 40044. *Biotechnol. Bioeng.* 81, 316–322. <https://doi.org/10.1002/bit.10474>
- Hallmann E., 2008. Fyzykochemiczne aspekty oczyszczania zaolejonych gruntów z wykorzystaniem surfaktantów syntetycznych i biosurfaktantów. Rozprawa doktorska, Politechnika Gdańska, Wydział Chemiczny, Katedra Technologii Tłuszczów i Detergentów.
- Holmberg K., 2001. Natural surfactants. *Curr. Opin. Colloid Interface Sci.* 6, 148–159. [https://doi.org/10.1016/S1359-0294\(01\)00074-7](https://doi.org/10.1016/S1359-0294(01)00074-7)
- Kozłowska J., Prus W., Stachowiak N., 2019. Microparticles based on natural and synthetic polymers for cosmetic applications. *Int. J. Biol. Macromol.* 129, 952–956. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.02.091>
- Krasowska A., 2010. Biomedyczna aktywność biosurfaktantów. *Postep. Hig. Med. Dosw. (online)* 64, 310–313.
- Kulawik-Pióro A., Lament E., 2015. Nowoczesne środki ochrony skóry. *Inż. Ap. Chem.* 54, 038–039.
- Lee B., 2014. *Fundamentals of food biotechnology*. Wiley-Blackwell, USA.
- Lourith N., Kanlayavattanukul M., 2009. Natural surfactants used in cosmetics: glycolipids. *Int. J. Cosmet. Sci.* 31, 255–261. <https://doi.org/10.1111/j.1468-2494.2009.00493.x>
- Lovaglio R., dos Santos F., Junior M., Contiero, J., 2011. Rhamnolipid emulsifying activity and emulsion stability: pH rules. *Colloids Surf. B.* 85, 301–305. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2011.03.001>
- Maier R., Soberon-Chavez G., 2000. *Pseudomonas aeruginosa* rhamnolipids: biosynthesis and potential applications. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 54, 625–633. <https://doi.org/10.1007/s002530000443>
- Makkar R., Cameotra S., 2002. An update on the use of unconventional substrates for biosurfactant production and their new applications. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 58, 428–434. <https://doi.org/10.1007/s00253-001-0924-1>
- Malik N., Ahmad M., Minhas M., Tulain R., Khalid I., Barkat K., Rashid A., 2020. Toxicological evaluation of xanthan gum based hydrogel formulation in Wistar rats using single dose study. *Acta Pol. Pharm.* 77, 353–360. <https://doi.org/10.32383/appdr/118533>
- Martín-Alfonso J., Cuadri A., Berta M., Stading M., 2018. Relation between concentration and shear-extensional rheology properties of xanthan and guar gum solutions. *Carbohydr. Polym.* 181, 63–70. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2017.10.057>
- Michocka K., 2012. Otrzymywanie i właściwości użytkowe nowych surfaktantów z ugrupowaniem cukrowym. Praca doktorska, Uniwersytet Ekonomiczny w Poznaniu, Wydział Towaroznawstwa, Katedra Technologii i Analizy Instrumentalnej.
- Mourelle M., Gómez C., Legido J. 2017. The potential use of marine microalgae and cyanobacteria in cosmetics and thalassotherapy. *Cosmetics* 4, 46. <https://doi.org/10.3390/cosmetics4040046>
- Nichols C., Lardière S., Bowman J., Nichols P., Gibson J., Guézennec J., 2005. Chemical characterization of exopolysaccharides from Antarctic marine bacteria. *Microb. Ecol.* 49, 578–589. <https://doi.org/10.1007/s00248-004-0093-8>
- Nitschke M., Costa S., Contiero J., 2005. Rhamnolipid surfactants: an update on the general aspects of these remarkable biomolecules. *Biotechnol. Prog.* 21, 1593–1600. <https://doi.org/10.1021/bp050239p>
- Nwodo U., Green E., Okoh A., 2012. Bacterial exopolysaccharides: functionality and prospects. *Int. J. Mol. Sci.* 13, 14002–14015. <https://doi.org/10.3390/ijms131114002>
- Paraszkiewicz K., Długoński J., 2003. Biosurfaktanty drobnoustrojowe – synteza i zastosowanie. *Biotechnologia* 4, 82–91.
- Pellecier F., André P., 2004. Cosmetic use of sophorolipids as subcutaneous adipose cushion regulation agents and slimming application. *World patent*, 108063, 208.
- Piljac T., Piljac, G., 2007. Use of Rhamnolipids as Cosmetics. Patent no. EP 1056462 B1.
- Rau U., Hammen S., Heckmann R., Wray V., Lang S., 2001. Sophorolipids: a source for novel compounds. *Ind. Crops. Prod.* 13, 85–92. [https://doi.org/10.1016/S0926-6690\(00\)00055-8](https://doi.org/10.1016/S0926-6690(00)00055-8)

- Rosalam S., England R., 2006. Review of xanthan gum production from unmodified starches by *Xanthomonas campestris* sp. *Enzyme Microb. Technol.* 39, 197–207. <https://doi.org/10.1016/j.enzmictec.2005.10.019>
- Ruas-Madiedo P., Hugenholtz J., Zoon P., 2002. An overview of the functionality of exopolysaccharides produced by lactic acid bacteria. *Int. Dairy J.* 12, 163–171. [https://doi.org/10.1016/S0958-6946\(01\)00160-1](https://doi.org/10.1016/S0958-6946(01)00160-1)
- Sachan N., Pushkar S., Jha A., Bhattacharya A., 2009. Sodium alginate: the wonder polymer for controlled drug delivery. *J. Pharm. Res.* 2, 1191–1199.
- Saeed E., 2005. Studies on isolation and identification of *Clostridium botulinum* investigating field samples specially from equine grass sickness cases. Doctoral dissertation, Niedersächsische Staats-und Universitätsbibliothek Göttingen.
- Sajna K., Gottumukkala L., Sukumaran R., Pandey A., 2015. White biotechnology in cosmetics. W: *Industrial Biorefineries and White Biotechnology*, Pandey A., Höfer R., Taherzadeh M., Nampoothiri M., Larroche C. (red.). Elsevier, Amsterdam, 607–652.
- Samaszko-Fiartek J., Kuźma M., Dmochowska B., Ślusarz R., Madaj J., 2016. Egzopolisacharydy bakteryjne: budowa i funkcje. *Wiad. Chem.* 70, 473–496.
- Scherer M., 2016. Specific aspects of a combined approach to male face correction: botulinum toxin A and volumetric fillers. *J. Cosmet. Dermatol.* 15, 566–574. <https://doi.org/10.1111/jocd.12247>
- Shilpa A., Agrawal S., Ray A., 2003. Controlled delivery of drugs from alginate matrix. *J. Macromol. Sci.* 43, 187–221. <https://doi.org/10.1081/MC-120020160>
- Song J., Chen H., 2018. Preparation of aroma microcapsules with sodium alginate and tetradecylallyldimethylammonium bromide (TADAB) and its potential applications in cosmetics. *Flavour Fragr. J.* 33, 160–165. <https://doi.org/10.1002/ffj.3411>
- Spoering A., Lewis K., 2001. Biofilms and planktonic cells of *Pseudomonas aeruginosa* have similar resistance to killing by antimicrobials. *J. Bacteriol.* 183, 6746–6751. <https://doi.org/10.1128/JB.183.23.6746-6751.2001>
- Van Hamme J., Singh A., Ward O., 2006. Physiological aspects: Part 1 in a series of papers devoted to surfactants in microbiology and biotechnology. *Biotechnol. Adv.* 24, 604–620. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2006.08.001>
- Vorhölter F. J., Schneiker S., Goesmann A., Krause L., Bekel T., Kaiser O., Linke B., Patschkowski T., Rückert C., Schmid J., Sidhu V., Sieber V., Tauch A., Watt S., Weisshaar B., Becker A., Niehaus K., Pühler A., 2008. The genome of *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* B100 and its use for the reconstruction of metabolic pathways involved in xanthan biosynthesis. *J. Biotechnol.* 134, 33–45. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2007.12.013>
- Wojnowska-Baryła I., 2011. Trendy w biotechnologii środowiskowej. Wyd. UWM, Olsztyn.
- Zbrojkiewicz M., Lebidowska A., Błońska-Fajfrowska B., 2018. Toksyna botulinowa w medycynie i kosmetologii – dwustuletnia historia i nowe perspektywy. *Postep. Hig. Med. Dosw.* (online) 72, 278–289.

## Zastosowanie kukurbitacyny B w terapii nowotworów

Clinical application of cucurbitacin B in cancer

Choroby nowotworowe stanowią najwyższą niedogodność kliniczną, społeczną oraz ekonomiczną w kategorii DALY (ang. *disability adjusted life-years* – lata życia skorygowane niesprawnością) [Mattiuzzi i Lippi 2019]. Innowacyjne metody leczenia, które zwiększają perspektywy poprawienia stanu zdrowia, nadal nie zmniejszają w wystarczającym stopniu prawdopodobieństwa śmierci [Halámková i in. 2018].

Ponadto choroby nowotworowe to aktualnie druga [Xu i in. 2015] najczęstsza przyczyna śmierci o trendzie wzrostowym [Mattiuzzi i Lippi 2019]. Biorąc pod uwagę te informacje, konieczne jest poszukiwanie nowych i efektywnych metod leczenia nowotworów. Ze względu na mechanizm powstawania i specyfikę genetyczną nowotworu oraz jego lokalizację, metody leczenia nowotworów są różne i wyodrębnienie jednej jest mało prawdopodobne. Mimo to ciągle poszukiwana jest substancja będąca uniwersalnym re-medium. Jedną z nich mogłaby być kukurbitacyna B (CuB), która podobnie jak inne kukurbitacyny może być wykorzystana w leczeniu pewnych nowotworów.

### Kukurbitacyny

#### Występowanie

Kukurbitacyny to tetracykliczne triterpeny, będące podgrupą terpenów, które są uzyskiwane z roślin z rodziny *Cucurbitaceae*. Wykorzystuje się je w medycynie ludowej dzięki ich działaniu antyreumatycznemu oraz przeczyszczającemu [Jayapraksham i in. 2003]. Zgłoszone zostało występowanie przynajmniej 100 rodzajów kukurbitacyń w około 30 gatunkach roślin z rodziny *Cucurbitaceae*, dodatkowo występują one w mniejszej ilości w rodzinach *Scrophulariaceae*, *Polemoniaceae* i *Thymelaeaceae*.

Posiadają one szeroki zakres terapeutyczny, m.in. przeciwzapalny, przeczyszczający i potencjalnie przeciwnowotworowy [Lee i in. 2010]. Aktualnie największym zainteresowaniem cieszy się działanie przeciwnowotworowe oraz antyproliferacyjne. Działanie antyproliferacyjne zostało udowodnione dla ośmiu rodzajów kukurbitacyń: B, D, E, I, IIa, L, Q i R [Ahmed i Halaweish 2014, Seo i in. 2014]. Właściwości przeciwnowotworowe zostały potwierdzone w badaniach *in vitro* oraz *in vivo*.

---

<sup>1</sup> Uniwersytet Medyczny w Lublinie, Studenckie Koło Naukowe ISOMERS przy Katedrze i Zakładzie Chemii Medycznej, kpdebek@gmail.com

<sup>2</sup> Uniwersytet Medyczny w Lublinie, Katedra i Zakład Chemii Medycznej

## **Fitochemia**

Kukurbitacyny zostały podzielone na 12 wariantów nazywanych kolejno od A do T, w których skład wchodzi ich pochodne nor, izomery, deoksydanty i diwodory, które z kolei mają inne podstawniki przy C<sub>2</sub> lub C<sub>3</sub> [Chen i in. 2005]. Kukurbitacyny mają tetracykliczny pierścień, do którego przyłączone są różne podstawniki zawierające w składzie tlen w różnych pozycjach. Warto wspomnieć, że część pochodnych, pomimo przynależności do tej samej klasy, nie posiada silnego potencjału w terapiach przeciwnowotworowych [Lee i in. 2010].

Ponadto warto zauważyć, że istnieją badania nad syntetycznymi kukurbitacynami wraz z ich pochodnymi, tj. CuB, CuD, dihydrokukurbitacyną B, pochodnymi IIa i B, które wykazują efekty farmakologiczne [Jung i Lui 2010, Lang i in. 2012, Guo i in. 2013]. Według Lang i in. [2012] pochodne CuB z różnymi postaciami strukturalnymi wykazują silne działanie przeciwnowotworowe, ponadto Guo i in. [2013] wykazali, że pochodna kukurbitacyny IIa została zastosowana z powodzeniem przy zwiększonej aktywności przeciw wirusowemu zapaleniu wątroby typu B (WZW B). W wyniku tego wykazano, że pochodne kukurbitacyny zderywatyzowane przez acetylację lub alkilację mają wyższy potencjał terapeutyczny od ich pochodnych występujących w naturze.

## **Podstawowe zagadnienia związane z terapią przeciwnowotworową**

### **Epidemiologia nowotworów**

Szacuje się, że w 2018 r. około 9,6 mln osób zmarło na nowotwory, co stanowi około 1/6 wszystkich przyczyn śmierci [WHO 2018]. Jest to wysoka śmiertelność, która wskazuje na konieczność poszukiwania przyczyn rozwoju nowotworu. Z tego powodu prowadzi się statystyki i badania w celu ustalenia m.in. czynników ryzyka.

Szacuje się, że 70% śmierci spowodowanych przez nowotwory występuje w krajach o niskim i średnim przychodzie [WHO 2018].

W wyniku przeglądu dokonanego przez Mattiuzzi i Lippiego [2019] zaobserwowano, że wśród 18,08 mln nowo odnotowanych nowotworów według danych Światowej Organizacji Zdrowia (WHO – World Health Organization) najczęstszymi nowotworami złośliwymi wśród mężczyzn (M – *male*) były nowotwory płuc (1,369 mln), prostaty (1,276 mln) oraz jelita grubego (0,576 mln). Wśród kobiet (F – *female*) najpowszechniejszymi rodzajami nowotworów były nowotwory piersi (2,088 mln), płuc (0,725 mln) i jelita grubego (0,521 mln). Ryzyko zapadnięcia na nowotwory określono na 20,2% (22,4% M, 18,2% F). Ryzyko zgonu z powodu wszelkich nowotworów szacuje się na 10,6% [Mattiuzzi i Lippi 2019].

W wyniku przeprowadzonych przez WHO szacunków zakłada się, że przy zachowaniu aktualnego trendu przyczyn śmierci te wywoływane przez nowotwory w roku 2060 zastąpią na pierwszym miejscu te spowodowane chorobami układu krwionośnego [Mattiuzzi i Lippi 2019].

### **Terapie wykorzystywane w leczeniu nowotworów**

Chemioterapia – forma leczenia systemowego, wykorzystująca cytostatyki (leki te wywołują częste objawy niepożądane) [Goto i in. 2012].



Terapia biologiczna – leczenie systemowe, w którego skład wchodzi różne rodzaje podawanych leków, a sposób ich działania zakłada interakcje z komórkami nowotworowymi.

Pozostałe rodzaje terapii to hormonoterapia, radioterapia i leczenie chirurgiczne. Radioterapia wywołuje odczyn zarówno miejscowe, jak i systemowe [Ohaeri i in. 2012, Williams i in. 2019]. Chirurgiczne usuwanie nowotworów wiąże się z oszpecceniem i/lub upośledzeniem funkcji organizmu [Ohaeri i in. 2012].

Przywołując przysięgę Hipokratesa – *primum non nocere* – należy szukać terapii efektywnych i bezpiecznych dla pacjenta.

## Zastosowanie kukurbitacyny w terapii przeciwnowotworowej

### Rak gruczołu piersiowego

Kukurbitacyna dzięki swoim właściwościom ma zdolność ingerencji w cykl komórkowy komórek nowotworowych. Tannin-Spitz i in. [2007] dowiedli, że glukozydy CuB i CuE hamują proliferację komórek nowotworowych raka piersi ER+. Dzieje się to na skutek zatrzymania ich w fazie G2/M przez spadek stężenia cykliny B1 i białka p34CDC2 koniecznych zmiany fazy, co prowadzi do ich apoptozy. Telomeraza, enzym odpowiedzialny za utrzymanie telomerów, wykazuje silną ekspresję w ponad 90% guzów raka piersi, ale ekspresja jest niska w prawidłowej tkance piersi [Duangmano i in. 2010]. Duangmano i in. [2010] zaobserwowali zahamowanie wzrostu komórek nowotworowych na skutek zmniejszenia aktywności telomerazy oraz większą wrażliwość na CuB wśród komórek ER-. Przyczyną był spadek ekspresji hTERT (ang. *human telomerase reverse transcriptase*) i c-Myc. Oprócz tego CuB powoduje pęknięcia podwójnej helisy DNA (ang. *deoxyribonucleic acid*) i prowadzi do wzrostu ekspresji wariantów histonów  $\gamma$ H2AX. Skutkuje to aktywacją kinaz ATM (ang. *ataxia telangiectasia mutated*) i ATR (ang. *ataxia telangiectasia and RAD3 related*). Ren i in. [2015] wykazali, że stopień fosforylacji ATR i ATR zwiększył się po zadziałaniu CuB na komórki nowotworowe raka piersi.

Rodzina receptorów HER (ang. *human epidermal growth factor receptor*) jest zaangażowana w regulację prawidłowego wzrostu i rozwoju piersi, a nadekspresja HER2 jest związana z rakiem piersi [Yarden 2001]. Dochodzi wtedy do zaburzenia tworzenia się jego dimerów, co zwiększa odpowiedź na czynniki wzrostu zębłu i prowadzi do transformacji onkogennej. Gupta i Srivastava [2014] zauważyli, że linie komórkowe SK-BR-3 wykazujące nadekspresję HER2 przejawiają większą wrażliwość na CuB. Ekspozycja komórek MDA-MB-231, SKBR3, MCF-7 i 4T-1 znacząco zmniejszyła ekspresję HER2 i EGFR (ang. *estimated gromelural filtration rate*). Zaobserwowano również spadek aktywności proteazy konwertującej TNF- $\alpha$  (ang. *tumor necrosis factor  $\alpha$* ) (TACE – *transarterial chemoembolization*), biorącej udział w aktywacji EGFR i HER2. CuB wykazała także właściwości hamujące wobec sygnalizacji integryny  $\alpha$ 6 $\beta$ 4, odgrywającej rolę w tworzeniu przerzutów.

Możliwe jest stosowanie CuB synergistyczne z innymi środkami terapeutycznymi. Aribi i in. [2013] dowiedli, że połączenie CuB z docetakselem lub gemcytabiną wzmacnia ich działanie proapoptotyczne i antyproliferacyjne na komórki ludzkiego raka piersi bez zwiększania toksyczności terapii.

### Nowotwory płuc

Kukurbitacyna B wykazuje działanie toksyczne wobec komórek różnych typów nowotworów płuc. Zastosowanie jej powoduje zatrzymanie wzrostu komórek przez zahamowanie cyklu komórkowego na etapie G2/M, co powoduje ich apoptozę. Zhang i in.

[2014] zaobserwowali zmiany w ultrastrukturze komórek poddanych działaniu CuB. Došlo do utraty pseudopodiów, skondensowania chromatyny i zmniejszenia ich objętości. Wykazali także wzrost aktywności kaspazy-3 i kaspazy-9 na skutek obrzęku mitochondriów i uwolnienia cytochromu c do cytoplazmy. W innym mechanizmie CuB indukuje zmiany epigenetyczne w komórkach nowotworów płuc związane z inhibicją metylotransferazy DNA (DNMT – *DNA methyltransferase*) i deacetylazy histonów (HDAC – *histone deacetylase*). Shukla i in. [2015] potwierdzili zatrzymywanie komórek w fazie G2/M oraz indukcję apoptozy przez CuB. Zaobserwowali też zahamowanie aktywności DNMT, HDAC oraz spadek poziomu 5-metylocytozyny, która jest markerem globalnej metylacji DNA w komórce.

Szlak sygnałowy Wnt/ $\beta$ -katenina jest funkcjonalnie ważny w regulacji proliferacji komórek, różnicowania, ruchliwości, a także polarności [Shukla i in. 2016]. Jego wzmożona aktywność prowadzi do aktywacji genów promujących proliferację, tworzenia przerzutów i angiogenezy. Według Shukli i in. [2016] CuB wykazuje działanie hamujące migrację komórek NDRP przy dawkach subtoksycznych. Zaobserwowali oni, że CuB indukuje spadek ekspresji jądrowej  $\beta$ -kateniny, a pozostałe białko gromadzi się w części podbłonowej. Oprócz tego CuB ingeruje w angiogenezę poprzez hamowanie powstawania tubuli śródbłonkowych.

Półsyntetyczna pochodna CuB, 2-deoksy-2-amino-kaburbitacyna E (DACE) wykazuje działanie hamujące proliferację komórek nowotworowych płuca. Marostica i in. [2015] porównali działanie na komórki gruczolakoraka płuc cisplatyny, irynotekanu i paklitakselu indywidualnie oraz w połączeniu z DACE. Zaobserwowali oni ich synergistyczne działanie oraz zahamowanie wznów proliferacji komórek, co może sugerować niższe prawdopodobieństwo oporności nowotworów na to połączenie.

## **Czerniak**

Czerniak jest złośliwym nowotworem skóry, którego leczenie opiera się na chirurgicznym usunięciu zmiany czy zastosowaniu leczenia immunologicznego. Dzięki zdolności hamowania proliferacji komórek i zmniejszania inwazyjności CuB działa ograniczająco na rozwój czerniaka skóry. Zhang i in. [2011] zwrócili uwagę na wpływ tej substancji na cytoszkielet komórek, co zmniejsza ich ruchliwość. Ekspozycja komórek B16F10 skutkowała szybko następującym uszkodzeniem cytoszkieletu aktynowego, co hamowało wzrost nowotworowy, a także inwazyjność i migrację. Wykazano także wyczerpanie puli G-aktyny, natomiast nie zaobserwowano wpływu na F-aktynę, co uznano za skutek indukcji agregacji G-aktyny. Działanie utleniające reaktywnych form tlenu (RFT) umożliwia reorganizację cytoszkieletu i ogólne działanie przeciwnowotworowe CuB na komórki czerniaka. Kofilina jest najbardziej znana jako regulator montażu/demontażu filamentów aktynowych, a to, czy sprzyja ona gromadzeniu lub rozkładaniu aktyny, zależy od stężenia kofiliny w stosunku do aktyny i względnych stężeń innych białek wiążących aktynę [Bamburg i Bernstein 2010]. Kofilina jest hiperaktywowana, a następnie reorganizowana w pałeczki kofiliny-aktyny po utworzeniu agregatów aktyny w komórkach A375 i B16F10 poddanych działaniu CuB [Zhang i in. 2013].

Zhang i in. [2011] zwrócili uwagę na kwas walproinowy (VPA), który jest obecnie stosowany jako środek przeciwdrgawkowy i przeciwdepresyjny. Posiada on także właściwości hamujące wobec deacetylaz histonów HDAC1 i HDAC2, co przyczynia się do wydłużenia fazy G1 komórek. Połączenie CuB z VPA wykazało synergistyczną cytotoksyczność przez indukcję szlaku apoptozy [Zhang in. 2011]. Połączenie to powoduje jed-

nak mniejszy stopień acetylacji histonu H3 niż sam VPA. Także markery stresu ER ulegają wahaniom, ponieważ samodzielnie VPA nie indukuje autofagii komórek czerniaka. Natomiast połączenie VPA i CuB wywołało znaczący wzrost markerów stresu ER oraz autofagię. Głównym wpływem VPA na komórki czerniaka jest indukcja uszkodzeń DNA prowadząca do zatrzymania cyklu w fazie G0/G1. Kinazy z grupy MAP (ang. *mitogen-activated protein*), które pośredniczą w odpowiedzi na działanie czynników stresowych, to JNK (ang. *c-Jun N-terminal kinases*). W przeciwieństwie do przejściowej aktywacji JNKs przez CuB połączenie CuB i VPA skutkowało przedłużoną aktywacją JNK; wyniki te sugerowały, że aktywacja JNK była związana z indukcją autofagii [Zhang i in. 2011]. W związku z tym połączenie VPA i kukurbitacyny wskazuje na zwiększenie stopnia uszkodzeń DNA komórek czerniaka i skuteczniejszą indukcję ich apoptozy.

### Podsumowanie

Wzięta pod lupę kukurbitacyna B wykazuje silne działanie przeciwo proliferacyjne w opisanych nowotworach. Umożliwia ona ingerencję w procesy apoptozy, autofagii, strukturę cytoszkieletu bądź cykl komórkowy. Na przykładzie raków płuc, piersi i czerniaka zaobserwowano, że CuB wzmacniała apoptozę i hamowała proliferację komórek nowotworowych. Ponadto wspomagała hamowanie tworzenia przerzutów raka piersi. Dalsze badania są niezbędne do powtórnego potwierdzenia osiągniętych przez badaczy wyników oraz rozszerzenia badań na inne nowotwory i choroby.

### Bibliografia

- Ahmed M.S., Halaweish F.T., 2014. Cucurbitacins: Potential candidates targeting mitogen-activated protein kinase pathway for treatment of melanoma. *J. Enzyme Inhib. Med. Chem.* 162–167. <https://doi.org/10.3109/14756366.2012.762646>
- Aribi A., Gery S., Lee D.H., Thoennisen N.H., Thoennisen G.B., Alvarez R., Quoc H., Kunik L., Doan N.B., Chan K.T., Toh M. Said J.W., Koeffler H.P., 2013. The triterpenoid cucurbitacin B augments the antiproliferative activity of chemotherapy in human breast cancer. *Int. J. Cancer*, 2730–2734. <https://doi.org/10.1002/ijc.27950>
- Bamburg J.R., Bernstein B.W., 2010. Roles of ADF/cofilin in actin polymerization and beyond. *F1000 Biol. Reports.*, 673–676. <https://doi.org/10.3410/B2-62>
- Chen J.C., Chiu M.H., Nie R.L., Cordell G.A., Qiu S.X., 2005. Cucurbitacins and cucurbitane glycosides: structures and biological activities. *Nat. Prod. Rep.* 22, 386–399. <https://doi.org/10.1039/b418841c>
- Duangmano S., Dakeng S., Jiratchariyakul W., Suksamrarn A., Smith D.R., Patmasiriwat P., 2010. Antiproliferative Effects of Cucurbitacin B in Breast Cancer Cells: Down-Regulation of the c-Myc/hTERT/Telomerase Pathway and Obstruction of the Cell Cycle. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 11, 5323–5335. <https://doi.org/10.3390/ijms11125323>
- Guo R.-H., Geng C.-A., Huang X.-Y., Ma Y.-B., Zhang Q., Wang L.-J., Zhang X.-M., Zhang R.-P., Chen J.-J., 2013. Synthesis of hemslecin A derivatives: A new class of hepatitis B virus inhibitors. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 23(5), 1201–1205. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2013.01.024>
- Gupta P., Srivastava S.K., 2014. Inhibition of Integrin-HER2 signaling by Cucurbitacin B leads to in vitro and in vivo breast tumor growth suppression. *Oncotarget* 5, 1812–1828. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.1743>

- Halámková J., Sláma O., Adámková Krákorová D., Demlová R., Kuře J., 2018. Komunikace s onkologickým pacientem. *Prolekare*. <https://www.prolekare.cz/casopisy/vnitri-lekarstvi/2019-5/komunikace-s-onkologickym-pacientem-112427> [dostup: 14.02.2021].
- Jayaprakam B., Seeram N.P., Nair M.G., 2003. Anticancer and antiinflammatory activities of cucurbitacins from *Cucurbita andrena*. *J. Org. Chem.* 75(21), 7146–7152. <https://doi.org/10.1021/jo101242e>
- Jung M.E., Lui R.M., 2010. Studies toward the total syntheses of Cucurbitacins B and D. *J. Org. Chem.* 75(21), 7146–7152. <https://doi.org/10.1021/jo101242e>
- Lang K.L., Silva I.T., Zimmermann L.A., Machado V.R., Teixeira M.R., Lapuh M.I., Galetti M.A., Palermo H.A., Cabrera G.N., Bernardes L.S., Simões C.M., Schenkel E.P., Caro M.S., Durán F.J., 2012. Synthesis and cytotoxic activity evaluation of dihydrocucurbitacin B and cucurbitacin B derivatives. *Bioorg. Med. Chem.* 20(9), 3016–3030.
- Lee D.H., Iwanski G.B., Thoennissen N.H., 2010. Cucurbitacin: ancient compound shedding new light on cancer treatment. *Sci. World J.* 10, 413–418. <https://doi.org/10.1100/tsw.2010.44>
- Marostica L.L., Silva I.T., Muller-Kratz J., Perish L., Geller F.C., Lang K.L., Caro M.S.B., Durán F.J., Schenkel E.P., Simões C.M.O., 2015. Synergistic Antiproliferative Effects of a New Cucurbitacin B Derivative and Chemotherapy Drugs on Lung Cancer Cell Line A549. *Chem. Res. Toxicol.* 28(10), 1949–1960. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrestox.5b00153>
- Mattiuzzi C., Lippi G., 2019. Current cancer epidemiology. *J. Epidemiol. Glob. Health* 9(4), 217–222. <https://doi.org/10.2991/jegh.k.191008.001>
- Ohaeri B.M., Ofi A.B., Campbell O.B., 2012. Relationship of knowledge of psychosocial issues about cancer with psychic distress and adjustment among breast cancer clinic attendees in a Nigerian teaching hospital. *Psychooncology* 21(4), 422–426. <https://doi.org/10.1002/pon.1914>
- Ren G., Sha T., Guo J., Li W., Lu J., Chen X., 2015. Cucurbitacin B induces DNA damage and autophagy mediated by reactive oxygen species (ROS) in MCF-7 breast cancer cells. *J. Nat. Med.* 69, 522–530. <https://doi.org/10.1007/s11418-015-0918-4>
- Seo C.R., Yang D.K., Song N.J., Yun U.J., Gwon A.R., Jo D.G., Cho J.Y., Yoon K., Ahn J.Y., Nho C.W., Park W.J., Yang S.Y., Park K.W., 2014. Cucurbitacin B and cucurbitacin I suppress adipocyte differentiation through inhibition of STAT3 signaling. *Food Chem. Toxicol.* 64, 217–224. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2013.11.040>
- Shukla S., Khan S., Kumar S., Sinha S., Farhan M., Bora H.K., Maurya R., Meeran S.M., 2015. Cucurbitacin B Alters the Expression of Tumor-Related Genes by Epigenetic Modifications in NSCLC and Inhibits NNK-Induced Lung Tumorigenesis. *Cancer Prev. Res. (Phila)* 8(6), 552–562. <https://doi.org/10.1158/1940-6207.CAPR-14-0286>
- Shukla S., Sinha S., Khan S., Kumar S., Sinha S., Mitra K., Maurya R., Meeran S.M., 2016. Cucurbitacin B inhibits the stemness and metastatic abilities of NSCLC via downregulation of canonical Wnt/ $\beta$ -catenin signaling axis. *Sci. Rep.* 6, 21860.
- Tannin-Spitz T., Grossman S., Dovrat S., Gottlieb H.E., Bergman M., 2007. Growth inhibitory activity of cucurbitacin glucosides isolated from *Citrullus colocynthis* on human breast cancer cells. *Biochem. Pharmacol.* 73(1), 56–67. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2006.09.012>
- Williams P.A., Cao S., Yang D., 2019. Patient-reported outcomes of the relative severity of side effects from cancer radiotherapy. *Support. Care Cancer*. <https://doi.org/10.1007/s00520-019-04820-2>
- World Health Organization (WHO), 2018. Cancer. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/cancer> [dostup: 11.02.2021].
- Xiao Y., Zheng Y., Wu Q., Jiang X., Yuan Y., Chang W., Bian Z., Zhu J., Tang Q., 2011. Histone deacetylase inhibitor valproic acid sensitizes B16F10 melanoma cells to cucurbitacin B treatment. *Acta Biochim. Biophys. Sin. (Shanghai)* 43(6), 487–495. <https://doi.org/10.1093/abbs/gmr032>
- Xu J., Murphy S.L., Kochanek K.D., Arias E., 2016. Mortality in the United States 2015. *NCHS Data Brief* 267.
- Yarden Y., 2001. Biology of HER2 and its Importance in breast Cancer. *Oncology* 61(suppl 2), 1–13. <https://doi.org/10.1159/000055396>

- Zhang M., Bian Z.-G, Zhang Y., Wang J.-H, Kan L., Wang X., Niu H., He P., 2014. Cucurbitacin B inhibits proliferation and induces apoptosis via STAT3 pathway inhibition in A549 lung cancer cells. *Mol. Med. Rep.*, 10(6), 2905–2911. <https://doi.org/10.3892/mmr.2014.2581>
- Zhang Y., Quyang D.-Y., Xu L., Ji Q., Cai J., He X., 2011. Cucurbitacin B induces rapid depletion of the G-actin pool through reactive oxygen species-dependent actin aggregation in melanoma cells. *Acta Biochim. Biophys. Sin.* 43(7), 556–567. <https://doi.org/10.1093/abbs/gmr042>
- Zhang Y., Ouyang D.-Y., Xu L.-H., Zha Q.-B., He X.-I., 2013. Formation of cofilin–actin rods following cucurbitacin-B-induced actin aggregation depends on slingshot homolog 1-mediated cofilin hyperactivation. *J. Cell. Biochem.* 114(10), 2415–2429. <https://doi.org/10.1002/jcb.24587>

## Przeżywalność kultur probiotycznych w dwóch rodzajach maślanki

### Survival of probiotic bacteria in two types of buttermilk

Rynek probiotyków jest szybko rozwijającym się sektorem, szczególnie w obszarze mlecznych produktów fermentowanych. Na rynku pojawiają się nowe produkty spożywcze wzbogacone o probiotyki [Saarela i in. 2000, Stanton i in. 2001]. Jedną z możliwych przyczyn tej tendencji jest rosnąca świadomość konsumentka w aspekcie pozytywnej roli probiotyków. Według National Health Interview Survey (NHIS) prebiotyki i probiotyki są jednymi z najbardziej popularnych suplementów diety stosowanych przez dorosłych mieszkańców USA [NHIS 2012].

Słowo „probiotyk” oznacza „dla życia” [Robinson 2002]. Jedną z definicji probiotyków wskazuje, że są to „żywe mikroorganizmy, które podawane w odpowiednich ilościach wywierają korzystne skutki zdrowotne” [Nowak 2010]. Istnieją dowody sugerujące, że probiotyki korzystnie wpływają na stan zdrowia i mogą być stosowane w różnych obszarach. W badaniu mleka fermentowanego z dodatkiem szczepu probiotycznego *Lactococcus lactis* NRRL B-50571 wykazano, że regularne spożycie tego produktu ma potencjał obniżania ciśnienia krwi [Khemariya i in. 2017, Beltrán-Barrientos i in. 2018]. W przypadku mleka fermentowanego szczepem *Lactobacillus brevis* DL1-11 badania przeprowadzone na zwierzętach sugerują potencjał w regulacji zaburzeń snu [Yu i in. 2020]. Suplementacja szczepami probiotyków *Lactobacillus rhamnosus* GG (LGG) oraz *Bifidobacterium lactis* BB-12 wykazała potencjał poprawy stanu jamy ustnej u młodzieży [Chenoll i in. 2019]. W dodatku mogą one wpływać pozytywnie na biegunkę infekcyjną u dzieci, biegunkę związaną ze stosowaniem antybiotyków oraz biegunkę szpitalną. Ponadto mogą zmniejszać hipercholesterolemię lub chronić przed rakiem pęcherza moczowego i jelita grubego [Fuller 1991, Socol i in. 2010]. Powszechnie wiadomo, że probiotyki wzmacniają odporność i przeciwdziałają stanom zapalnym poprzez utrzymanie równowagi w mikrobiocie jelitowej [Shahbazi i in 2020].

Maślanka jest produktem ubocznym powstającym przy produkcji masła ze słodkiej lub ukwaszonej śmietanki. Produkowana jest przy użyciu kultur mezofilnych używanych do ukwaszania śmietanki przeznaczonej do produkcji masła lub też jest wytwarzana z maślanki słodkiej po oddzieleniu od ziaren masła, po jej pasteryzacji i zaszczepieniu tymi kulturami, które nie zawierają probiotyków. Maślanka jest porównywalna z mlekiem pod względem zarówno składu chemicznego, jak i wyglądu [O’Connell i Fox, 2000]. Przeprowadzono wiele badań nad maślanką jako środkiem prozdrowotnym [Kumar i in., 2015]. Produkt ten jest uważany za żywność funkcjonalną ze względu na swoje składniki takie jak: otoczki kuleczek tłuszczowych mleka (MFGM – *milk fat globule membrane*) i polarne lipidy, białka serwatkowe i kazeiny [Gille 2011, Ali 2019].

---

<sup>1</sup> Katedra Przetwórstwa Produktów Zwierzęcych, Uniwersytet Rolniczy w Krakowie, robert.gosik@student.urk.edu.pl

W badaniach klinicznych wykazano pozytywny wpływ maślanki tradycyjnej, otrzymanej jako produkt uboczny przy produkcji masła ze śmietany ukwaszonej, na obniżenie poziomu cholesterolu i ciśnienia krwi. Ponadto osoby, które cierpią na nietolerancję laktozy, mogą traktować ten produkt jako alternatywę dla mleka. W przypadku właściwości przeciwnowotworowych zaobserwowano, że spożycie maślanki może zmniejszyć ryzyko zachorowania na raka pęcherza moczowego. Przypuszcza się również, że produkt ten może obniżać poziom cholesterolu we krwi [Kumar i in. 2015]. Wykazano również, że maślanka niefermentowana ma jeszcze większe właściwości przeciwnowotworowe jelita grubego niż maślanka fermentowana [Kuchta 2011, Kuchta i in. 2012]. Ponadto maślanka jest źródłem wapnia, który jest zalecany w celu obniżenia ryzyka osteoporozy [Włodarek i in. 2014].

Wykorzystanie maślanki niesie ze sobą nie tylko korzyści zdrowotne, ale również potencjał technologiczny [Ferreiro i in. 2016, Hebatallah i in. 2018]. Wykorzystanie tego produktu w przemyśle spożywczym opiera się na jego zdolności do poprawy właściwości emulgujących i wzmacniania smaku produktów [Sodini i in. 2006]. Maślanka, bogata w lipidy polarne, wykazuje dobre właściwości stabilizujące i emulgujące, dodaje się ją do śmietanki kawowej. Dzięki temu w przemyśle spożywczym może ona zostać wykorzystana do poprawienia jakości produktu [Szkolnicka i in. 2020].

## Material i metody

### Produkcja

Praca polegała na produkcji mleka fermentowanego w warunkach półtechnicznych z wykorzystaniem kultury mleczarskiej Flora Danica oraz czystych kultur probiotycznych: *Bifidobacterium lactis* HN019, *Lactobacillus acidophilus* NCFM®, *Lactobacillus rhamnosus* HN001™.

Kultura Flora Danica DVS Christian Hansen zawiera następujące szczepy: *Lactococcus lactis* ssp. *cremoris*, *Leuconostoc* spp., *Lactococcus lactis* ssp. *lactis*, *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* biovar *diacetylactis*.

Do badań użyto mleko o zawartości 1,5% tłuszczu i maślanekę naturalną znormalizowaną do zawartości tłuszczu 1,5%. Maślanka została uzyskana jako produkt uboczny podczas produkcji masła ze słodkiej śmietanki.

Mleko i maślanekę poddano obróbce termicznej w pasteryzatorze zbiornikowym w temp. 85°C/20 min. Oba surowce schłodzono do temperatury 23°C i zaszczerpiono kulturą Flora Danica. Zaszczepione mleko i maślanekę podzielono na trzy części. Jedna stanowiła próbę kontrolną, do drugiej części dodatkowo dodano czyste kultury *Bifidobacterium lactis* HN019 i *Lactobacillus acidophilus* NCFM®, a do trzeciej – *Lactobacillus rhamnosus* HN001™ w określonych ilościach. Po wymieszaniu wiano je do sterylnych szklanych pojemników i inkubowano w temp. 22°C do osiągnięcia pH 4,7. Analizę przeprowadzono następnego dnia po schłodzeniu i ponownie po 21 dniach przechowywania w temp. 4°C.

Tę samą metodę zastosowano w przypadku maślanki, z tą różnicą, że maślanekę przed pasteryzacją znormalizowano śmietanką do 1,5% zawartości tłuszczu.

## Zakres analiz

Właściwości fizykochemiczne mleka fermentowanego i maślanki:

- 1) kwasowość potencjalna wg PN-75/A-86130,
- 2) kwasowość czynna – pH produktu wg normy [PN-75/A-86130].

Ocena mikrobiologiczna:

1) Liczbę bakterii *Lactobacillus acidophilus* w mleku oznaczano poprzez hodowlę odpowiednich rozcieńczeń produktu na podłożu MRS Agar, zmodyfikowano (glukozę zastąpiono maltozą), a następnie inkubowano w warunkach tlenowych w temp. 37°C przez 72 godz. [Dmytrów 2015].

2) Określenie liczby *Bifidobacterium lactis* wykonano poprzez hodowlę odpowiedniego rozcieńczenia produktu na podłożu MRS z dodatkiem NNLP [mieszanina zawierająca kwas nalidyksowy (50 mg·l<sup>-1</sup>), siarczan neomycyny (100 mg·l<sup>-1</sup>), chlorek litu (3 g·l<sup>-1</sup>) oraz siarczan paromomycyny (200 mg·l<sup>-1</sup>)], a następnie inkubowano w warunkach bez-tlenowych w temp. 37°C przez 72 godz. [Dmytrów 2015].

3) Oznaczenie bakterii kwasu mlekowego *Lactococcus* sp. przeprowadzono poprzez odpowiednie rozcieńczenia próbki, które następnie przenoszono do płytek Petriego i zalewano rozpuszczonym i ochłodzonym do temp. 45°C ±1°C podłożem agarowym o pH 7,15 i inkubowano odwrócone płytki Petriego w temp. 22°C ±1°C przez 120 godz. w warunkach tlenowych [FIL-IDF Standard 149A: 1997].

4) Oznaczenie *Leuconostoc* sp. – na zestalonym i podsuszonym na płytkach podłożu Mayeux wykonywano posiew powierzchniowy, rozmazując jałową pałeczką Drigalskiego 0,1 ml odpowiedniego rozcieńczenia próbki. Odwrócone płytki inkubowano w 22°C ±1°C przez 120 godz. w warunkach tlenowych [FIL-IDF Standard 149A: 1997].

5) Oznaczenie *Lactobacillus rhamnosus* w produkcie wykonano poprzez hodowlę odpowiedniego rozcieńczenia na podłożu MRS z 5-proc. dodatkiem NNLP, a następnie inkubowano w warunkach bez-tlenowych w temp. 37°C przez 72 godz. [Dmytrów 2015].

## Wyniki i dyskusja

### Kwasowość potencjalna i miareczkowa dwóch rodzajów mleka fermentowanego

Analizowane parametry (kwasowość czynna i miareczkowa) miały wpływ na jakość i trwałość produktu.

Porównując uzyskane wyniki (tab. 1) dla mleka fermentowanego, zauważono, że kwasowość czynna wszystkich produktów była zbliżona. Najbardziej istotną różnicę zaobserwowano między Mlekiem K a Maślanką A + B. Przechowywanie produktów nie miało statystycznie istotnego wpływu na pH produktu. Podobne wyniki uzyskali Vasavada i White [1979], gdy po przechowywaniu maślanki handlowej przez siedem dni wartości pH wynosiły od 4,36 do 4,56.

Kwasowość miareczkowa mieściła się w zakresie 32–38°SH (tab. 1). Zgodnie z Codex Alimentarius Standard dla produktów mlecznych (2003) mleko fermentowane powinno zawierać co najmniej 0,6% kwasu mlekowego. Uzyskane wyniki spełniały te wymagania.



Tabela 1. Wartość średnia i błąd standardowy kwasowości czynnej i miareczkowej czynnej w produktach

Parametr	Czas przechowywania [dzień]	Rodzaj mleka fermentowanego					
		Mleko K	Mleko A+B	Mleko Rh	Maślanka K	Maślanka A+B	Maślanka Rh
Kwasowość potencjalna [pH]	1	4,60 ± 0,14	4,45 ± 0,08	4,57 ± 0,04	4,60 ± 0,13	4,40 ± 0,13	4,58 ± 0,13
	21	4,61 ± 0,03	4,54 ± 0,04	4,59 ± 0,03	4,60 ± 0,02	4,41 ± 0,07	4,53 ± 0,03
Kwasowość miareczkowa [°SH]	1	34,3 ± 3,04	38,2 ± 1,82	35,6 ± 0,98	32,5 ± 0,96	35,7 ± 1,75	33,5 ± 0,78
	21	36,5 ± 2,31	37,6 ± 2,07	38,3 ± 1,51	34,5 ± 0,81	40,0 ± 2,34	35,7 ± 0,96

Mleko K – mleko fermentowane kontrolne; Mleko A + B – mleko fermentowane z dodatkiem kultur *Bifidobacterium lactis* i *L. acidophilus*; Mleko Rh – mleko fermentowane z dodatkiem kultury *L. rhamnosus*; Maślanka K – maślanka fermentowana kontrolna, Maślanka A + B – maślanka fermentowana z dodatkiem kultur *Bifidobacterium lactis* i *L. acidophilus*; Maślanka Rh – maślanka fermentowana z dodatkiem kultury *L. rhamnosus*

Podobne wyniki uzyskali Tomovska i in. [2016] dla różnych rodzajów mleka fermentowanego różnymi szczepami bakteryjnymi. Produkty z dodatkiem *L. acidophilus* i *Bifidobacterium lactis*, w porównaniu z próbami kontrolnymi, charakteryzowały się wyższą kwasowością miareczkową zarówno na początku, jak i na końcu przechowywania. Wynikało to prawdopodobnie z większej liczby bakterii dodanych do surowca. W większości próbek, z wyjątkiem mleka fermentowanego z dodatkiem kultur *Bifidobacterium lactis* i *L. acidophilus*, czas przechowywania wpływał na wzrost kwasowości miareczkowej. Na szczególną uwagę zasługuje fakt, że maślanka naturalna, ukwaszona kulturą maślarską, z dodatkiem wspomnianych wcześniej bakterii probiotycznych, nie różniła się kwasowością miareczkową od mleka fermentowanego, natomiast po przechowywaniu uzyskała najwyższą wartość 40°SH ± 2,34°SH. Może to świadczyć o tym, że skład surowca był bardziej korzystny dla tego typu mikroorganizmów (tab. 1).

### Liczebność mikroorganizmów w badanych rodzajach mleka fermentowanego

Określenie liczby i przeżywalności niektórych mikroorganizmów w produktach obejmowało oznaczenie liczebności: *Lactococcus* sp., *Leuconostoc* sp., *L. acidophilus*, *Bifidobacterium* i *L. rhamnosus* w produktach po fermentacji i po 21 dniach chłodniczego przechowywania.

Porównując liczebność bakterii z rodzaju *Lactococcus* i *Leuconostoc* (tab. 2) w obu próbach kontrolnych (Mleko K i Maślanka K), stwierdzono, że uzyskane wyniki w produktach świeżych i po 21 dniach przechowywania w temp. 4°C są podobne.

Liczba bakterii *Lactococcus* sp. wahała się w produktach świeżych od 7,95 ± 0,03 dla mleka A + B do 8,83 ± 0,07 log jtk/g dla mleka Rh.

*Lactobacillus acidophilus* i *Bifidobacterium* zdawały się hamować wzrost *Lactococcus*, natomiast *L. rhamnosus* wspomagała ich rozwój.

Żywotność *L. acidophilus* w obu produktach była wysoka. Według Nighswongera i wsp. [1996] trwałość *L. acidophilus* w maślanie zależała od szczepu użytego do produkcji. Zhang [2015] zauważył, że zarówno *L. acidophilus* sp., jak i *Bifidobacterium* w hodowanych maślankach fermentowanych z dodatkiem inuliny charakteryzowały się wysoką przeżywalnością. W świeżym produkcie bakterie występowały w liczbie 10<sup>7</sup> jtk/ml, a po przechowywaniu przez 12 tyg. ich populacja zmniejszyła się o jeden rząd wielkości.

W tym badaniu, nawet bez dodatku inuliny, przeżywalność była podobna. *Bifidobacterium* zarówno w Mleku B + A, jak i Maślanca B + A po 21 dniach przechowywania utrzymywały się na poziomie  $10^8$  jtk/g, a *L. acidophilus* w Maślanca B + A również była na poziomie  $10^8$  jtk/g.

Tabela 2. Liczba specyficznych mikroorganizmów w poszczególnych rodzajach mleka fermentowanego w pierwszym i ostatnim dniu przechowywania (wartości średnie  $\pm$  błąd standardowy)

Typ mikroorganizmu [log jtk/g]	Czas przechowywania [dzień]	Rodzaj mleka fermentowanego					
		Mleko K	Mleko A+B	Mleko Rh	Maślanka K	Maślanka A+B	Maślanka Rh
<i>Lactococcus</i> sp.	1	8,50 $\pm$ 0,01	7,95 $\pm$ 0,03	8,83 $\pm$ 0,07	8,51 $\pm$ 0,14	8,20 $\pm$ 0,16	8,54 $\pm$ 0,10
	21	8,21 $\pm$ 0,26	8,08 $\pm$ 0,56	8,54 $\pm$ 0,18	8,21 $\pm$ 0,33	7,87 $\pm$ 0,36	8,71 $\pm$ 0,11
<i>Leuconostoc</i> sp.	1	8,36 $\pm$ 0,23	7,55 $\pm$ 0,05	8,07 $\pm$ 0,02	8,51 $\pm$ 0,11	7,96 $\pm$ 0,08	8,30 $\pm$ 0,07
	21	7,78 $\pm$ 0,15	7,73 $\pm$ 0,21	7,69 $\pm$ 0,23	7,87 $\pm$ 0,14	7,66 $\pm$ 0,19	7,84 $\pm$ 0,20
<i>L. acidophilus</i>	1	-	8,14 $\pm$ 0,18	-	-	8,44 $\pm$ 0,07	-
	21	-	7,79 $\pm$ 0,54	-	-	8,23 $\pm$ 0,25	-
<i>Bifidobacterium</i>	1	-	8,69 $\pm$ 0,13	-	-	8,46 $\pm$ 0,14	-
	21	-	8,36 $\pm$ 0,20	-	-	8,18 $\pm$ 0,25	-
<i>L. rhamnosus</i> sp.	1	-	-	6,85 $\pm$ 0,12	-	-	7,35 $\pm$ 0,24
	21	-	-	5,97 $\pm$ 0,18	-	-	6,28 $\pm$ 0,34

Mleko K – mleko fermentowane kontrolne; Mleko A + B – mleko fermentowane z dodatkiem kultur *Bifidobacterium lactis* i *L. acidophilus*; Mleko Rh – mleko fermentowane z dodatkiem kultury *L. rhamnosus*; Maślanka K – maślanka fermentowana kontrolna; Maślanka A + B – maślanka fermentowana z dodatkiem kultur *Bifidobacterium lactis* i *L. acidophilus*; Maślanka Rh – maślanka fermentowana z dodatkiem kultury *L. rhamnosus*

Maślanka kontrolna okazała się nieco lepszym podłożem niż Maślanka A + B. Przeżywalność *L. acidophilus* była na wyższym poziomie. Pałeczki z gatunku *L. rhamnosus* wydawały się mieć nieco lepsze środowisko rozwoju w Maślanca A + B niż w Mleku A + B.

Liczba *L. rhamnosus* zarówno w Mleku Rh, jak i Maślanca Rh była najniższa w porównaniu z innymi analizowanymi bakteriami. Stwierdzono wysoce istotną statystycznie różnicę pomiędzy Mlekiem Rh a Maślanką Rh, zaś liczba bakterii w produkcie świeżym wynosiła odpowiednio  $6,85 \pm 0,12$  i  $7,35 \pm 0,24$  log jtk/g. W obu produktach po przechowywaniu nastąpiło zmniejszenie liczby tych bakterii o około jeden rząd wielkości, co wskazuje na zależność między liczbą tych bakterii a czasem przechowywania w warunkach chłodniczych.

Maślanka była statystycznie istotnie lepszym podłożem dla namnażania się *L. rhamnosus*. Dave i in. [1997] sugerowali, że w celu uzyskania produktu probiotycznego (jogurtu) liczba bakterii powinna być na poziomie  $10^5$ – $10^6$  pod koniec przechowywania. Obecnie mleko fermentowane zgodnie z wytycznymi ma mieć min.  $10^7$  jtk/g [Mojka 2013]. Analizowane produkty spełniały te wymagania. Stosując tę samą zasadę do maślanki, można przyjąć, że wszystkie produkty spełniają te wymagania. Wszystkie analizowane mikroorganizmy (z wyjątkiem *L. rhamnosus*) utrzymywały żywotność na poziomie  $10^7$ – $10^8$  jtk/g.

## Wnioski

1. Mleka fermentowane produkowane z mleka i maślanki są dobrymi nośnikami *Lactobacillus acidophilus* NCFM® i *Bifidobacterium lactis* HN019.
2. *Lactobacillus acidophilus* NCFM® i *Bifidobacterium lactis* HN019 zarówno w mleku fermentowanym, jak i w maślanke charakteryzowały się wysoką przeżywalnością.
3. *Lactobacillus rhamnosus*™, w porównaniu z innymi bakteriami probiotycznymi, charakteryzowała się najniższą liczebnością bakterii zarówno w produktach świeżych, jak i przechowywanych.
4. Dodatek probiotyków nie wpłynął istotnie na liczebność *Lactococcus* sp. i *Leuconostoc* sp. w mleku fermentowanym.
5. Wszystkie produkty z dodatkiem probiotyków zachowały ilość tych bakterii na poziomie, który może przynosić korzyści terapeutyczne.
6. Mleko fermentowane probiotyczne wyprodukowane z mleka lub maślanki może być potencjalnie wprowadzone do produkcji komercyjnej.

## Bibliografia

- Ali A.H., 2019. Current knowledge of buttermilk: composition, applications in the food industry, nutritional and beneficial health characteristics. *Int. J. Dairy Technol.* 72(2), 169–182.
- Beltrán-Barrientos L.M., González-Córdova A.F., Hernández-Mendoza A., Torres-Inguanzo E.H., Astiazarán-García H., Esparza-Romero J., Vallejo-Cordoba B., 2018. Randomized double-blind controlled clinical trial of the blood pressure-lowering effect of fermented milk with *Lactococcus lactis*: a pilot study 2. *J. Dairy Sci.* 101(4), 2819–2825. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-13189>
- Centers for Disease Control and Prevention, 2012. National Health Interview Survey.
- Chenoll E., Moreno I., Sánchez M., Garcia-Grau I., Silva Á., González-Monfort M., Genovés S., Vilella F., Seco-Durban C., Simón C., Ramón D., 2019. Selection of new probiotics for endometrial health. *Front. Cell. Infect. Microbiol.* 9, 114. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2019.00114>
- Codex Standard, 2011. Codex Standard for Fermented Milks: Codex Stan 243-2003. FAO, United Nations, Roma.
- Dave R.I., Shah N.P., 1997. Viability of yoghurt and probiotic bacteria in yoghurts made from commercial starter cultures. *Int. Dairy J.* 7(1), 31–41.
- Dmytrów I., 2015. Wpływ probiotycznych bakterii kwasu mlekowego na stabilność przechowalniczą kwasowych serów twarogowych. *ŻNTJakość*, 5(102), 49–60.
- Ferreiro T., Martínez S., Gayoso L., Rodríguez-Otero J.L., 2016. Evolution of phospholipid contents during the production of quark cheese from buttermilk. *J. Dairy Sci.* 99(6), 4154–4159.
- FIL – IDF Standard 149 A: 1997. Dairy Starter cultures of *lactic acid bacteria* (LAB). Standard of identity.
- Fuller R., 1991. Probiotics in human medicine. *Gut* 32(4), 439–442.
- Gille D., 2011. The health aspects of buttermilk components. A review. *ALP Sci.* 540, 1–22.
- Hebatallah A., Kheadr E., Dabour N., El-Saadany K., El-Zieny M., Zedan M., 2018. Buttermilk: one of the oldest functional foods. *Egypt. J. Dairy Sci.* 46(1), 11–30.
- Khemariya P., Singh S., Nath, G., Gulati A.K. 2017. Probiotic *Lactococcus lactis*: a review. *Turkish JAF Sci. Technol.*, 5(6), 556–562. <https://doi.org/10.24925/turjaf.v5i6.556-562.690>
- Kuchta A., 2011. Investigations of the health benefits of buttermilk fat globule membrane lipid components. Dissertation. Dublin City University.
- Kuchta A.M., Kelly P.M., Stanton C., Devery R.A., 2012. Milk fat globule membrane – a source of polar lipids for colon health? A review. *Int. J. Dairy Technol.* 65(3), 315–333.

- Kumar R., Kaur M., Garsa A.K., Shrivastava B., Reddy V.P., Tyagi A., 2015. Natural and cultured buttermilk. *Ferment. Milk Dairy Prod.* 203–225.
- Mojka K., 2013. Charakterystyka mlecznych napojów fermentowanych. *Probl. Hig. Epidemiol.* 94(4), 722–729.
- NHIS Centers for Disease Control and Prevention, 2012. National Health Interview Survey.
- Nighswonger B.D., Brashears M.M., Gilliland S.E., 1996. Viability of *Lactobacillus acidophilus* and *Lactobacillus casei* in fermented milk products during refrigerated storage. *J. Dairy Sci.* 79(2), 212–219.
- Nowak A., Sliżewska K., Libudzisz Z., 2010. Probiotyki – historia i mechanizmy działania. *ŻNTJ* 4(17), 5–19.
- O’Connell J.E., Fox P.F., 2000. Heat stability of buttermilk. *J. Dairy Sci.* 83(8), 728–1732.
- PN-75/A-86130. Mleko i przetwory mleczarskie. Napoje mleczne. Metody badań.
- Robinson R.K. (red.), 2002. Dairy microbiology handbook: the microbiology of milk and milk products. John Wiley & Sons.
- Saarela M., Mogensen G., Fondén R., Mättö J., Mattila-Sandholm T., 2000. Probiotic bacteria: safety, functional and technological properties. *J. Biotechnol.* 84(3), 197–215.
- Shahbazi R., Yasavoli-Sharahi H., Alsadi N., Ismail N., Matar C. 2020. Probiotics in Treatment of Viral Respiratory Infections and Neuroinflammatory Disorders. *Molecules* 25(21), 4891. <https://doi.org/10.3390/molecules25214891>
- Socol C.R., Vandenbergh L.P., Spier M.R., Medeiros A.B., Yamaguishi C. T., Lindner J.D., Thomaz-Socol V., 2010. The potential of probiotics: a review. The potential of probiotics: a review. *Food Technol. Biotechnol.* 48(4), 413–434.
- Sodini I., Morin P., Olabi A., Jiménez-Flores R., 2006. Compositional and functional properties of buttermilk: a comparison between sweet, sour, and whey buttermilk. *J. Dairy Sci.* 89(2), 525–536.
- Stanton C., Gardiner G., Meehan H., Collins K., Fitzgerald G., Lynch P.B., Ross R.P., 2001. Market potential for probiotics. *Am. J. Clin. Nutr.* 73(suppl 2), 476S–483S.
- Szkolnicka K., Dmytrów I., Mituniewicz-Małek A., 2020. Buttermilk ice cream – new method for buttermilk utilization. *Food Sci. Nutr.* 8(3), 1461–1470. <https://doi.org/10.1002/fsn3.1429>
- Tomovska J., Gjorgievski N., Makarijoski B., 2016. Examination of pH, titratable acidity and antioxidant activity in fermented milk. *J. Mater. Sci. Engineer. A* 6 (11–12), 326–333.
- Vasavada P.C., White C.H., 1979. Quality of commercial buttermilk. *J. Dairy Sci.* 62(5), 802–806.
- Włodarek D., Głąbska D., Kołota A., Adamczyk P., Czekajło A., Grzeszczak W., Pluskiewicz W., 2014. Calcium intake and osteoporosis: the influence of calcium intake from dairy products on hip bone mineral density and fracture incidence – a population-based study in women over 55 years of age. *Publ. Health Nutr.* 17(2), 383–389.
- Yu L., Han X., Cen S., Duan H., Feng S., Xue Y., Tian F., Zhao J., Zhang H., Zhai Q., Chen W., 2020. Beneficial effect of GABA-rich fermented milk on insomnia involving regulation of gut microbiota. *Microbiol. Res.* 233, 1–9. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2020.126409>
- Zhang D., 2015. Chemical Composition, Probiotic Survivability and Shelf Life Studies of Symbiotic Buttermilk. ProQuest Dissertations and Theses. University of Vermont.

## Inżynieria glikozylotransferaz bakteryjnych

### Engineering of bacterial glycosyltransferases

Inżynieria białek zakłada uzyskanie rekombinowanych białek o zmienionych właściwościach katalitycznych i strukturze. Glikozylotransferazy (GT – *glycosyltransferases*) są cennym obiektem badań ze względu na ich obecność we wszystkich organizmach oraz szeroki zakres aktywności. Szczególnie enzymy pochodzenia bakteryjnego są często wykorzystywane w procesach przemysłowych, m.in. do zmiany właściwości leków, w tym antybiotyków, oraz poprawy rozpuszczalności cząsteczek biologicznych. Do modyfikacji cech glikozylotransferaz i innych enzymów wykorzystuje się metody racjonalnego projektowania oraz ukierunkowanej ewolucji.

### Charakterystyka glikozylotransferaz

Sekwencje kodujące enzymy uczestniczące w syntezie, rozkładzie oraz modyfikacji węglowodanów obejmują 1–5% genomów organizmów żywych. Glikozylotransferazy, które stanowią podklasę enzymów należących do transferaz, katalizują syntezę wiązań glikozydowych w reakcji glikozylacji przez przeniesienie aktywowanej reszty cukrowej z donora na akceptor [Breton i in. 2006]. Najczęściej (w ok. 65%) donorami dla tych enzymów są nukleotydowe pochodne reszt cukrowych (np. UDP-galaktoza, GDP-fukoza). Akceptorami dla przenoszonych reszt cukrowych są mono-, di-, oligosacharydy, białka, lipidy, DNA oraz inne cząsteczki, w związku z tym GT odpowiadają za syntezę oraz modyfikację różnorodnej grupy produktów naturalnych [Lairson i in. 2008]. Zidentyfikowano około 200 000 sekwencji genów kodujących glikozylotransferazy, występujących we wszystkich królestwach organizmów [Henrissat i in. 2017]. Glikozylotransferazy pogrupowano w obrębie 114 rodzin w bazie danych CAZy (ang. *Carbohydrate Active EnZymes database*) na podstawie znanej lub przewidywanej struktury oraz mechanizmu działania [Rini i Esko 2017]. Glikozylotransferazy katalizują tworzenie wiązania glikozydowego według dwóch schematów, tj. z zachowaniem (ang. *retaining*) lub odwróceniem (ang. *inverting*) konfiguracji anomerycznej w nowym wiązaniu względem konfiguracji w substracie. Kataliza przebiegająca z odwróceniem polega na reakcji substytucji nukleofilowej zachodzącej przez mechanizm dwucząsteczkowy S<sub>N</sub>2. Natomiast mechanizm reakcji GT zachowujących układ reszty hemiacetylowej grupy hydroksylowej zdaniem naukowców przebiega według mechanizmu pojedynczego przemieszczania i jest określany jako S<sub>N</sub>i lub *front face* [Ardèvol i Rovira 2015].

---

<sup>1</sup> Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej w Lublinie, Wydział Biologii i Biotechnologii, [aleksandra.horbowicz@poczta.umcs.lublin.pl](mailto:aleksandra.horbowicz@poczta.umcs.lublin.pl)

<sup>2</sup> Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej w Lublinie, Wydział Biologii i Biotechnologii

## Klasy strukturalne glikozylotransferaz

Na podstawie budowy przestrzennej tych enzymów wyróżniono trzy klasy strukturalne: GT-A, GT-B oraz GT-C. W budowie przestrzennej glikozylotransferaz klasy A można wyróżnić dwie różniące się wielkością, ale ściśle do siebie przylegające, pętle Rossmanna – struktury charakterystyczne dla białek wiążących nukleotydy. Miejsce aktywne tej klasy enzymów stanowi konserwatywny motyw Asp-X-Asp (DXD, X – dowolny aminokwas) koordynujący dwuwartościowy jon metalu. Odpowiada on za neutralizację grupy fosforanowej z nukleotydowej pochodnej cukrowej oraz katalizuje zmiany konformacji białka podczas reakcji. W GT-A wyróżnia się dwie domeny: N-końcowa składa się ze 100–120 aminokwasów (w tym jedna z pętli Rossmanna), zakończona jest motywem DXD oraz odpowiada za wiązanie podjednostki cukrowej donora, C-końcowa natomiast odpowiada za wiązanie akceptora i jest znacznie mniej konserwatywna [Gloster 2014, Liang i in. 2015]. Glikozylotransferazy klasy B również posiadają dwie pętle Rossmanna, jednak zlokalizowane naprzeciwko siebie i połączone krótkim łącznikiem. W swojej sekwencji aminokwasowej nie mają motywu DXD. Domeny N- i C-końcowa odpowiednio wiążą donor i akceptor, przy czym związanie donora inicjuje zmiany konformacyjne białka z otwartej na zamkniętą, co umożliwia reakcję glikozylacji [Liang i in. 2015]. GT-C to integralne, hydrofobowe białka błonowe. W swojej strukturze nie mają pętli Rossmanna, ale zawierają 8–13 helis transbłonowych (TM – *transmembrane*). N-końcowa katalityczna domena TM odpowiada za wiązanie substratu, a C-końcowa domena o strukturze globularnej posiada aktywność glikozylotransferazy. Donorami dla tej klasy enzymów są kompleksy cukier–fosfolipid, odmiennie niż dla GT-A i GT-B, które wykorzystują nukleotydowe pochodne cukrowe [Lizak i in. 2011, Gloster 2014].

### Podejścia stosowane do modyfikacji struktur i właściwości glikozylotransferaz

Enzymy naturalne zazwyczaj posiadają pewne właściwości, które nie są korzystne z punktu widzenia ich zastosowania przemysłowego w syntezie produktów docelowych. Z tego powodu za cechy pożądane uważa się:

- wysoki poziom ekspresji, najlepiej w prostych systemach ekspresyjnych, np. *Escherichia coli*,
- stabilność enzymu podczas przechowywania i stosowania,
- wysoką aktywność,
- wysoką regio- i stereoselektywność,
- brak lub niewielkie działania niepożądane enzymu, np. hydrolizę substratu,
- niską specyficzność substratową enzymu, która daje możliwość stosowania zmodyfikowanych substratów.

Zestaw takich ulepszonych lub nowych właściwości enzymu umożliwia syntezę związków będących analogami produktów naturalnych [Mcarthur i Chen 2016].

Modyfikacje właściwości enzymów polegają na wprowadzeniu zmian w ich strukturze pierwszorzędowej przez zmiany w sekwencji nukleotydowej kodujących je genów. W tym celu stosuje się metody ukierunkowanej ewolucji, a po rozszerzeniu o rozwijające się narzędzia bioinformatyczne – tzw. metody racjonalnego projektowania [Hupert-Kocurek i in. 2014].

## Racjonalne projektowanie

Między strukturą trzeciorzędową białka a pełnioną przez nie funkcją występuje ścisła zależność. Dlatego podejście opierające się na racjonalnym projektowaniu jest wykorzystywane w przypadku enzymów o znanej strukturze trzeciorzędowej i mechanizmie działania. W badaniu struktur białek dużą rolę odgrywają metody obrazowania: krystalografia rentgenowska oraz spektroskopia magnetycznego rezonansu jądowego (NMR – *nuclear magnetic resonance*). Wszystkie poznane struktury białek zgromadzone są w Protein Data Bank [www.rcsb.org], skąd można czerpać informacje w celu projektowania interesujących enzymów [Dunbrack 2002]. Opracowano szereg algorytmów do przewidywania struktur enzymów, pozycji centrum aktywnego oraz oddziaływań między enzymem a substratem/substratami. Należą do nich CAVER v3.0 oraz iPBAvizu, które stanowią rozszerzenia programu PyMol często wykorzystywanego do wizualizacji struktur białek. Obydwa są używane do oceny tzw. gorących miejsc, których mutacja może wpływać na aktywność, stabilność oraz zmianę specyficzności substratowej i akceptorowej enzymu [Faure i in. 2019].

Metoda QuikChange® PCR (ang. *polymerase chain reaction*) to technika polegająca na sklonowaniu genu do wektora ekspresyjnego, a następnie transformowaniu nim komórek gospodarza bakteryjnego *dam+*, w którym odbywa się modyfikacja miejsc 5'-GATC-3' z utworzeniem 5'-G<sup>m6</sup>ATC-3'. Plazmid wyizolowany z takiego szczepu jest powielany w reakcji PCR ze starterami nie w pełni komplementarnymi w stosunku do plazmidu matrycowego. Efektem jest powstanie nieciągłych nici DNA, ponieważ brakuje wiązania fosfodiesterowego pomiędzy ostatnimi nukleotydami. Matrycowy, metylowany plazmid jest degradowany przez enzym restrykcyjny DpnI rozpoznający i przeprowadzający trawienie tylko w obrębie zmetylowanych sekwencji 5'-G<sup>m6</sup>ATC-3'. Niestrawiony produkt PCR zostanie wykorzystany do transformowania komórek kompetentnych *E. coli*, które użyją własnej ligazy do połączenia nici DNA w kolisty plazmid. Zmiana specyficzności substratowej glikozylotransferazy elloramycyny ElmGT ze *Streptomyces olivaceus* została osiągnięta dzięki powyższej metodzie. Mutacje były ukierunkowane na motyw  $\alpha/\beta/\alpha$  odpowiedzialny za rozpoznanie substratów, co zostało udowodnione za pomocą krystalografii rentgenowskiej. Wykazano, że zamiana aminokwasu alifatycznego na aminokwas obdarzony ładunkiem (glutamina, histydyna, asparagina, arginina) w centrum aktywnym powodowała drastyczny wzrost specyficzności substratowej enzymu, który w naturalnej, niezmutowanej postaci rozpoznaje osiem substratów [Ramos i in. 2009].

Metoda MegaWhop PCR to metoda podobna do wcześniej opisanej, jednak wymagająca dodatkowej reakcji PCR w celu stworzenia „megastartera”. Metoda ta wykorzystuje trzy startery oligonukleotydowe, dwie rundy PCR i matrycę DNA zawierającą gen, który ma zostać zmutowany. Pierwsza runda PCR generuje krótki fragment z pożądaną mutacją wprowadzoną przy użyciu jednego z flankujących starterów i startera zmutowanego. Ten amplifikowany fragment jest używany w drugiej reakcji PCR jako megastarter razem z zewnętrznym starterem do amplifikacji dłuższego regionu matrycowego DNA. Końcowy produkt jest oczyszczany i klonowany do odpowiedniego wektora [Forloni i in. 2019]. Za pomocą technik MegaWhop PCR oraz QuikChange® PCR przeprowadzono mutagenezę 6-glikozylotransferazy sacharozy ze szczepu *Streptococcus mutans*. W efekcie poprawiono zdolność enzymu do  $\alpha$ -glikozylacji katecholu, katechiny, 4-metylokatecholu, 3-metoksykatecholu i innych związków flawonoidowych, wykorzystując tani i łatwo dostępny substrat w postaci sacharozy, co otworzyło drogę do otrzymywania nowych

związków flawonoidowych. Udowodniono, że glikozylacja flawonoidów poprawiała ich stabilność, biodostępność oraz rozpuszczalność [Liang i in. 2016].

Innym podejściem inżynierskim była eliminacja aktywności enzymu zastosowana w przypadku syntazy hialuronianu bakterii *Pasteurella multocida*, który jest wykorzystywany do syntezy glikozaminoglikanów. Syntaza hialuronianowa składa się z dwóch domen katalitycznych:  $\beta$ -1,3-N-acetyloglukozaminylotransferazy i  $\beta$ -1,4-glukuronozylotransferazy. Zmiany uzyskano przez przeprowadzenie kilkunastu cykli PCR ze starterami oligonukleotydowymi komplementarnymi do różnych miejsc otwartej ramki odczytu (ORF – *open reading frame*). Produkty PCR zostały sklonowane do wektorów ekspresyjnych, dzięki czemu możliwa była produkcja glikozylotransferaz o pojedynczej aktywności enzymatycznej, które można było immobilizować i wykorzystać do produkcji strukturalnie znanych glikozaminoglikanów [Jing i DeAngelis 2003].

### Enzymy chimeryczne

Zgodnie z definicją białek chimerycznych po połączeniu co najmniej dwóch domen pochodzących z różnych białek powstaje jedno białko funkcjonalne. Glikozylotransferazy klasy B (GT-B) są atrakcyjnym modelem do tego typu podejścia, ponieważ mają dwie oddzielne domeny N i C [Breton i in. 2006]. Przykładem jest tworzenie chimerycznych glikozylotransferaz w celu otrzymywania hybrydowych glikopeptydów w komórkach *E. coli* [Truman i in. 2009]. Chimery tworzone z domen odpowiedzialnych za wiązanie akceptora i donora, ale pochodzących z dwóch glikozylotransferaz GTFB i ORF10 z grzyba *Actinoplanes teichomyceticus*. Enzymy typu dzikiego odpowiadają za przeniesienie glukozy i N-acetyloglukozaminy na aglikon wankomycyny i teikoplaniny. Glikozylotransferazy są podobne do siebie pod względem sekwencji aminokwasowej (w ok. 70%) oraz mechanizmu glikozylacji (obie należą do rodziny GT-B), różnią je cząsteczki donorowe oraz akceptory. Po udanym łączeniu domen między wspomnianą parą enzymów działania rozszerzono o enzymy GTFA oraz ORF1 z tego samego organizmu. Tworzenie enzymów chimerycznych polegało na sklonowaniu genów kodujących domenę rozpoznającą donor reszty glikozylowej (jednego enzymu) oraz domenę rozpoznającą akceptor (drugiego enzymu), połączonych krótkim fragmentem nukleotydowym z wektorem ekspresyjnym. Po transformacji komórek gospodarza gen chimeryczny poddawano ekspresji, a następnie analizowano syntezę, aktywność oraz strukturę nowego enzymu chimerycznego [Truman i in. 2009].

Podejście opierające się na projektowaniu enzymów chimerycznych zastosowano również w przypadku glikozylotransferaz zaangażowanych w syntezę landomycyny (związku przeciwnowotworowego) produkowanej przez szczepy rodzaju *Streptomyces*. Naturalnie występuje kilka wariantów landomycyny różniących się składem łańcucha bocznego. Tworzenie genów chimerycznych składających się z sekwencji genu glikozylotransferazy LanGT1 przenoszącej D-oliwozę, pochodzącej ze szczepu *S. cyanogenus* oraz genu kodującego LndGT1, przenoszącej L-rodinozę ze szczepu *S. globisporus* przebiegało w kilku krokach. Fragmenty o różnej wielkości i różnym położeniu jednego z genów zastępowano odpowiednikami z drugiego genu, stosując w tym celu technikę megastarterów. Po sklonowaniu zmutowanych genów do wektora ekspresyjnego, a następnie wprowadzeniu do gospodarza *E. coli*, uzyskano enzymy chimeryczne. W ten sposób otrzymano 10 genów chimerycznych reprezentujących różne kombinacje genów *lanGT1* oraz *lndGT1* [Krauth i in. 2009].



W celu lepszego zrozumienia specyficzności substratowej oraz aktywności  $\alpha$ 1-3/4 fukozylotransferaz *Helicobacter pylori* uczestniczących w syntezie lipopolisacharydu zastosowano wymianę domen (ang. *domain swapping*) między odpowiednimi białkami różnych szczepów tego gatunku. Wymianę domen przeprowadzono za pomocą zachodzących na siebie reakcji PCR (OE-PCR – *overlap extension PCR*) z dwoma etapami reakcji PCR. W pierwszej z nich stosuje się pary starterów, które na końcu 5' są komplementarne do końca innej cząsteczki, z którą ma zostać połączony powielany fragment. Tak powielone, częściowo zachodzące na siebie cząsteczki DNA miesza się ze sobą i stosuje jako matrycę w PCR ze starterami skrajnymi. W efekcie w trakcie PCR dochodzi do połączenia dwóch fragmentów DNA. Na skutek takich manipulacji w przypadku fukozylotransferaz uzyskano 12 chimer, w których reszty aminokwasowe 347–353 zidentyfikowano jako kluczowy region, który znosił lub nadawał aktywność. Dodatkowo tzw. skanowanie alaniną udowodniło niezbędną obecność reszt aromatycznych oraz grupy hydroksylowej tyrozyny w celu zapewnienia optymalnej aktywności enzymu [Ma i in. 2003].

### Ukierunkowana ewolucja

Ukierunkowana ewolucja jest metodą alternatywną w stosunku do racjonalnego projektowania. Jej głównym atutem jest brak konieczności poznania struktury przestrzennej enzymu poddawanego zmianom. Ogólnym założeniem tego podejścia jest naśladowanie w warunkach laboratoryjnych i nieco przyspieszonej formie naturalnie zachodzącego procesu ewolucji. Podejście zakłada wprowadzenie losowych zmian w sekwencji nukleotydowej genów, a następnie testowania ich skutków na poziomie białka za pomocą technik selekcji i skriningu. Podejście ukierunkowanej ewolucji szczególnie dobrze nadaje się do „dostrojenia” właściwości, które enzym już posiada, oraz łączenia cech różnych, naturalnie występujących biokatalizatorów [Schmidt-Dannert i Arnold, 1999].

Jedną z najpopularniejszych metod wprowadzania mutacji w obrębie genu jest podatna na błędy łańcuchowa reakcja polimerazy (epPCR – *error-prone polymerase chain reaction*). Metoda ta polega na przeprowadzeniu reakcji PCR z użyciem termostabilnej polimerazy *Taq* o niskiej wierności i braku aktywności naprawczej. Dodatkowe obniżenie dokładności tej polimerazy można osiągnąć przez nadmiar jonów  $Mg^{2+}$  w środowisku reakcyjnym lub stosowanie nierównych stężeń nukleotydów (dNTP – *deoxyribonucleotide triphosphate*). Wadą tego podejścia jest możliwość wprowadzania takich samych mutacji w obrębie genu oraz generowanie mutacji milczących wynikających z degeneracji kodu genetycznego [Sen i in. 2007]. Produkty reakcji PCR z wprowadzonymi mutacjami są klonowane do wektorów ekspresyjnych, a uzyskana w ten sposób biblioteka mutantów jest poddawana etapowi selekcji [Pritchard i in. 2005]. Technikę epPCR zastosowano do zmiany właściwości glikozylotransferazy oleandomycyny (OleD) ze *Streptomyces antibioticus*. Po etapie mutacji badacze zastosowali proste badanie przesiewowe pozwalające ocenić zdolność przenoszenia reszty cukrowej, wykorzystując zastępczy akceptor zdolny do fluorescencji. W efekcie uzyskano kilka mutantów, które mogły wydajniej syntezować  $\beta$ -D-glukopiranozyd. Funkcjonalne mutanty dodatkowo rekombinowano, uzyskując potrójnie zmutowany enzym wykazujący szerszą specyficzność substratową i akceptorową oraz zwiększoną aktywność glikozylacji nowobiocyny [Williams i in. 2007, Williams i Thorson, 2008].

## Podsumowanie

Opisane przykłady pokazują sukcesy w zakresie inżynierii glikozylotransferaz. W modyfikowaniu funkcji GT stosowane są metody racjonalnego projektowania oraz ukierunkowanej ewolucji. Niezbędne jest jednak dalsze poznawanie relacji: sekwencja aminokwasowa – struktura białka – pełniona funkcja, co jest swego rodzaju wąskim gardłem, zwłaszcza w odniesieniu do glikozylotransferaz, dla których przewidywanie szczegółów biochemicznych funkcjonowania na podstawie struktury pierwszorzędowej jest nadal mało precyzyjne, a białka są trudnym materiałem w kontekście ich heterologicznej ekspresji i oczyszczania. Dlatego rozwój baz danych, technik bioinformatycznych oraz metod badania struktury i aktywności, obok ciągłego ulepszania metod mutagenety, pozostaje kluczowym zagadnieniem dla rozwoju inżynierii tej cennej grupy enzymów.

## Bibliografia

- Ardèvol A., Rovira C., 2015. Reaction mechanisms in carbohydrate-active enzymes: glycoside hydrolases and glycosyltransferases. Insights from ab Initio Quantum Mechanics/Molecular Mechanics Dynamic Simulations. *J. Am. Chem. Soc.* 137, 7528–7547. <https://doi.org/10.1021/jacs.5b01156>
- Breton C., Šnajdrová L., Jeanneau C., Koča J., Imberty A., 2006. Structures and mechanisms of glycosyltransferases. *Glycobiology* 16, 29–37. <https://doi.org/10.1093/glycob/cwj016>
- Dunbrack R.L., 2002. Rotamer libraries in the 21st century. *Curr. Opin. Struct. Biol.* 12, 431–440. [https://doi.org/10.1016/S0959-440X\(02\)00344-5](https://doi.org/10.1016/S0959-440X(02)00344-5)
- Faure G., Joseph A.P., Craveur P., Narwani T.J., Srinivasan N., Gelly J.C., Rebehmed J., de Breven A., 2019. IPBAvizu: A PyMOL plugin for an efficient 3D protein structure superimposition approach. *Source Code Biol. Med.* 14, 1–5. <https://doi.org/10.1186/s13029-019-0075-3>
- Forloni M., Liu A.Y., Wajapeyee N., 2019. Megaprimer polymerase chain reaction (PCR)-based mutagenesis. *Cold Spring Harb. Protoc.* 513–515. <https://doi.org/10.1101/pdb.prot097824>
- Gloster T.M., 2014. Advances in understanding glycosyltransferases from a structural perspective. *Curr. Opin. Struct. Biol.* 28, 131–141. <https://doi.org/10.1016/j.sbi.2014.08.012>
- Henrissat B., Surolia A., Stanley P.A., 2017. *Genomic View of Glycobiology*. W: *Essentials of Glycobiology*, 3rd ed., Varki A., Cummings R.D., Esko J.D., Stanley P., Hart G.W., Aebi M., Darvill A.G., Kinoshita T., Packer N.H., Prestegard J.H., Schnaar R.L., Seeberger P.H. (red.). Cold Spring Harbor (NY), Cold Spring Harbor Laboratory Press; 2015–2017.
- Hupert-Kocurek K., Banaś A., Wojcieszynska D., Guzik U., 2014. Ukierunkowana ewolucja enzymów pochodzenia mikrobiologicznego. *Postep. Mikrobiol.* 53, 43–48.
- Jing W., DeAngelis P.L., 2003. Analysis of the two active sites of the hyaluronan synthase and the chondroitin synthase of *Pasteurella multocida*. *Glycobiology* 13, 661–671. <https://doi.org/10.1093/glycob/cwg085>
- Krauth C., Fedoryshyn M., Schleberger C., Luzhetskyy A., Bechthold A., 2009. Engineering a function into a glycosyltransferase. *Chem. Biol.* 16, 28–35. <https://doi.org/10.1016/j.chembiol.2008.12.003>
- Lairson L.L., Henrissat B., Davies G.J., Withers S.G., 2008. Glycosyl transferases: structures, functions, and mechanisms. *Annu. Rev. Biochem.* 77, 521–555. <https://doi.org/10.1146/annurev.biochem.76.061005.092322>
- Liang C., Zhang Y., Jia Y., Wang W., Li Y., Lu S., Jin J.-M., Tang S.-Y., 2016. Engineering a carbohydrate-processing transglycosidase into glycosyltransferase for natural product glycodiversification. *Sci. Rep.* 6, 1–10. <https://doi.org/10.1038/srep21051>

- Liang D.M., Liu J.H., Wu H., Wang B.B., Zhu H.J., Qiao J.J., 2015. Glycosyltransferases: mechanisms and applications in natural product development. *Chem. Soc. Rev.* 44, 8350–8374. <https://doi.org/10.1039/c5cs00600g>
- Lizak C., Gerber S., Numao S., Aebi M., Locher K.P., 2011. X-ray structure of a bacterial oligosaccharyltransferase. *Nature* 474, 350–356. <https://doi.org/10.1038/nature10151>
- Ma, B., Wang, G., Palcic, M.M., Hazes B., Taylor D.E., 2003. C-terminal amino acids of *Helicobacter pylori*  $\alpha$ 1,3/4 fucosyltransferases determine Type I and Type II transfer. *J. Biol. Chem.* 278, 21893–21900. <https://doi.org/10.1074/jbc.M301704200>
- Mcarthur J.B., Chen X., 2016. Glycosyltransferase engineering for carbohydrate synthesis. *Biochem. Soc. Trans.* 44, 129–142. <https://doi.org/10.1042/BST20150200>
- Pritchard L., Corne D., Kell D., Rowland J., Winson M., 2005. A general model of error-prone PCR. *J. Theor. Biol.* 234, 497–509. <https://doi.org/10.1016/j.jtbi.2004.12.005>
- Protein Data Bank. <https://www.rcsb.org/> [dostep: 30.08.2021].
- Ramos A., Olano C., Braña A.F., Méndez C., Salas J.A., 2009. Modulation of deoxysugar transfer by the elloramycin glycosyltransferase ElmGT through site-directed mutagenesis. *J. Bacteriol.* 191, 2871–2875. <https://doi.org/10.1128/JB.01747-08>
- Rini JM, Esko JD., 2017. Glycosyltransferases and Glycan-Processing Enzymes. W: *Essentials of Glycobiology*. 3rd ed., Varki A, Cummings RD, Esko JD, Stanley P., Hart G.W., Aebi M., Darvill A.G., Kinoshita T., Packer N.H., Prestegard J.H., Schnaar R.L., Seeberger P.H. (red.). Cold Spring Harbor (NY), Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2015–2017.
- Schmidt-Dannert C., Arnold F.H., 1999. Directed evolution of industrial enzymes. *Trends Biotechnol.* 17(4), 135–136. [https://doi.org/10.1016/S0167-7799\(98\)01283-9](https://doi.org/10.1016/S0167-7799(98)01283-9)
- Sen S., Venkata Dasu V., Mandal B., 2007. Developments in directed evolution for improving enzyme functions. *Appl. Biochem. Biotechnol.* 143, 212–223. <https://doi.org/10.1007/s12010-007-8003-4>
- Truman A.W., Dias M.V.B., Wu S., Blundell T.L., Huang F., Spencer J.B., 2009. Chimeric glycosyltransferases for the generation of hybrid glycopeptides. *Chem. Biol.* 16, 676–685. <https://doi.org/10.1016/j.chembiol.2009.04.013>
- Williams G.J., Thorson J.S., 2008. A high-throughput fluorescence-based glycosyltransferase screen and its application in directed evolution. *Nat. Protoc.* 3, 357–362. <https://doi.org/10.1038/nprot.2007.538>
- Williams G.J., Zhang C., Thorson J.S., 2007. Expanding the promiscuity of a natural-product glycosyltransferase by directed evolution. *Nat. Chem. Biol.* 3, 657–662. <https://doi.org/10.1038/nchembio.2007.28>

Justyna Komsta<sup>1</sup>, Sylwia Sosik<sup>1</sup>, Monika Kędzierska-Matysek<sup>1</sup>, Anna Teter<sup>1</sup>,  
Barbara Topyła<sup>1</sup>, Piotr Domaradzki<sup>1</sup>, Marek Kowalczyk<sup>1</sup>,  
Małgorzata Ryszkowska-Siwko<sup>1</sup>

## **Produkty pszczele jako surowce pochodzenia zwierzęcego wykorzystywane w kosmetyce**

Bee products as raw materials of animal origin used in cosmetics

Produkty pszczele charakteryzują się wieloma cennymi właściwościami biologicznymi, co sprawia, że są szeroko stosowane zarówno w lecznictwie, jak i kosmetyce [Kędzierska-Matysek 2014]. Stosowane są one najczęściej do produkcji kosmeceutyków (środków łączących w sobie cechy leku i kosmetyku) i kosmetyków pielęgnacyjnych. Celem pracy było przedstawienie możliwości wykorzystania w kosmetyce wybranych produktów pszczelich jako surowców pochodzenia zwierzęcego.

### **Miód**

Najpopularniejszym produktem pszczelim jest miód. Jego właściwości zdrowotne i kosmetyczne znane są od dawna. Miód jest naturalnym produktem wytworzonym przez pszczoły z nektaru roślin i/lub spadzi z domieszką specyficznych enzymów wytwarzanych przez gruczoły ślinowe pszczół robotnic. Głównym składnikiem miodu są węglowodany, które wpływają na jego wartość odżywczą. Poza składnikami odżywczymi zawiera on również liczne substancje bioaktywne mogące wpływać pozytywnie na organizm człowieka. Wykorzystanie miodu w kosmetyce wynika z jego właściwości przeciwdziałających (neutralizuje i hamuje powstawanie rodników nadtlenkowych, odpowiedzialnych za procesy starzenia komórek), antybiotycznych (hamuje wzrost na skórze naturalnej flory i drobnoustrojów powodujących zakażenia dermatologiczne) oraz przeciwzapalnych (zmniejsza stan zapalny, ogranicza oraz usuwa obrzęki i wysięki). Produkt działa również nawilżająco i odżywczo na skórę. Na drodze osmozy miód wzmacnia przepływ krwi w naczyniach włosowatych, polepszając odżywienie skóry. Podwyższa też napięcie skóry, wygładzając zmarszczki [Tichonow i in. 2017, Dubiago i in. 2018, Kędzia i Hołderna-Kędzia 2020].

Właściwości prozdrowotne miodu wynikają z obecności polifenoli, na które składają się m.in. flawonoidy oraz kwasy fenolowe i ich estry, a także kwasy organiczne, wolne aminokwasy, witamina E ( tokoferol), kwas askorbinowy, pochodne karotenoidów, enzymy (oksydaza glikozy, katalaza, lizozym), biopierwiastki (Zn, Cu, Se, Mn, Co). Związki te determinują właściwości antyoksydacyjne, chroniąc aktywne biologicznie

---

<sup>1</sup> Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, Wydział Nauk o Zwierzętach i Biogospodarki  
monika.matysek@up.lublin.pl

związki przed utlenianiem. Pojemność antyoksydacyjna miodów zależy przede wszystkim od rośliny (jej pochodzenia botanicznego), z której pszczoły zebrały pożytek [Bertoncelj i in. 2007]. Piszcz i Głód [2019] oraz Wieczorek i in. [2014] na podstawie oceny całkowitego potencjału antyoksydacyjnego (TAP – *total antioxidant potential*), stężenia związków fenolowych i flawonoidów uszeregowali miody odmianowe z Polski według następującej kolejności: gryka > spadź > lipa > wielokwiat > akacja.

Miód znacząco polepsza strukturę skóry, dlatego jest szeroko stosowany w kosmetyce leczniczo-pielęgnacyjnej, przy wytwarzaniu maseczek, maści, kremów i innych produktów. Przeciwdziała wypryskom skórny, działa łagodząco na podrażnienia, zaczerwienienia, oparzenia słoneczne i odmrożenia, spierzchnięte usta i ręce [Marwicka i in. 2014]. Medycyna ludowa podaje wiele przepisów na kosmetyki z dodatkiem produktów pszczelich. Obecnie wytwórnie kosmetyków polecają gotowe preparaty, np.:

Mellidyn® LS 9834 – mieszanina ekstraktu z miodu, propolisu i mleczka pszczelego. Kompleks jest źródłem aminokwasów, składników mineralnych, witamin (głównie z grupy B). Jest przeznaczony do produkcji kosmetyków nawilżających do pielęgnacji skóry suchej i wrażliwej, gdyż wykazuje działanie nawilżające, łagodzące i przeciwzapalne. Może stanowić składnik żeli pod prysznic, płynów do kąpieli. Zalecane jest dozowanie od 2 do 3%.

Melhydran™ LS 9876 – ekstrakt z miodu zapewniający natychmiastowe i długotrwałe nawilżenie. Może być składnikiem kosmetyków nawilżających, przeciwsłonecznych, do pielęgnacji skóry wrażliwej, również przeznaczonych dla dzieci. Zalecane jest dozowanie w ilości od 1 do 5%.

Hydrotensyl Complex – kompleks ekologicznego ekstraktu z miodu, natywnego kolagenu morskiego i hydrolizowanej elastyny morskiej. Stosowany do kosmetyków *anti-aging*, nawilżających do codziennej pielęgnacji. Chroni przed procesami degradacji włókien strukturalnych, procesami przyspieszonego starzenia i spadkiem nawilżenia skóry. Zalecane jest dozowanie w ilości od 3 do 5% [IMPAG 2019].

## Propolis

Propolis (kit pszczeli) jest produktem pochodzenia roślinnego, powstającym przy udziale pszczół. Wydzielina żywiczno-balsamiczna pokrywająca pączki liści niektórych drzew jest zbierana przez pszczoły i mieszana z wydzielinami ich gruczołów ślinowych i żuwaczkowych, woskiem, ziarnami pyłku oraz pierzgi. Dodatkowo propolis zawiera zanieczyszczenia mechaniczne, takie jak kurz, fragmenty pszczół, drewna czy płótna powałkowego. Wykorzystywany jest przez pszczoły przede wszystkim do uszczelnienia i wzmocnienia konstrukcji ula, jak również spełnia rolę odkażającą. Skład chemiczny kitu pszczelego jest różny i zależy od pochodzenia geograficznego oraz rasy pszczół. W przemyśle kosmetycznym wykorzystywany jest zagęszczony ekstrakt etanolowy z propolisu (EEP – *ethanolic extract of propolis*) o zawartości ok. 65% s.m., bez domieszek balastowych. W efekcie ekstrakt zawiera prawie w 100% substancje pochodzenia roślinnego o silnym działaniu biologicznym. W kosmetyce stosuje się również przygotowane z propolisu ekstrakty wodne, glicerynowe, olejowe oraz liofilizowane [Kędzia 2008].

Ekstrakt etanolowy z propolisu otrzymany z polskiego propolisu (pochodzenia krajowego) zawiera w swoim składzie średnio 90% związków aromatycznych i alifatycz-

nych (w tym 5% flawonoidów, 3,5% kwasów fenolowych, 1,4% estrów kwasów fenolowych) oraz 5% substancji lipidowo-woskowych, 1% składników mineralnych i 4% pozostałych substancji. Ekstrakty z propolisu są wykorzystywane w kosmetyce ze względu na ich potwierdzone właściwości biologiczne [Kędzia i Hołderna-Kędzia 2020]. Przeciwwzapalne, przeciwutleniające i odnawiające tkanki działanie krajowego EEP przypisuje się flawonoidom, kwasom fenolowym, estrom kwasów fenolowych. Dodatkowo związki flawonoidowe obecne w EEP chronią naczynia krwionośne, ponieważ przyczyniają się do wzrostu syntezy kolagenu uelastyczniającego naczynia włosowate i zmniejszają nadmierną przesączalność naczyń włosowatych poprzez ich skurcz [Kopczyńska i in. 2018]. Ekstrakty z propolisu (0,1–0,5% wodno-etanolowo-glicerynowe lub 1–5% olejowe) stosuje się do produkcji szminek, błyszczków oraz tuszów do rzęs i kredek do oczu ze względu na ich działanie przeciwdrobnoustrojowe i przeciwwzapalne. Kremy, mydła i szampony z dodatkiem propolisu są zalecane do pielęgnacji skóry tłustej ze skłonnością do zmian zapalnych oraz zakażeń bakteryjnych i grzybiczych. Kosmeceutyki propolisowe wykazują pozytywne działanie w leczeniu chorób dermatologicznych, szczególnie w ropnych chorobach skóry, łojotkowych (trądzik), włosów (łysienie), łuszczycy [Szeleszczuk i in. 2013, Kędzia i Hołderna-Kędzia 2020].

### Mleczko pszczele

Mleczko pszczele jest wytwarzane przez gruczoły gardzielowe pszczół robotnic, karmione są nim matki pszczele oraz larwy pszczół robotnic i trutni, ale tylko przez pierwsze 3–4 dni. Jest to produkt nietrwały – o jego trwałości decyduje temperatura przechowywania. W temp. 2–4°C zachowuje trwałość tylko przez 2–4 tygodnie, w –10°C jest zdatne przez 9 miesięcy, a w –18°C – aż 18 miesięcy. Mleczko pszczele można liofilizować i przechowywać przez 3–5 lat w temperaturze 2–4°C. Skład chemiczny mleczka pszczelego jest bogaty. W suchej masie zawiera ok. 30% białka (w tym 9 aminokwasów egzogennych, peptydy – rojalizyna, apisimina, jelleniny oraz enzymy), 11% lipidów (kwasy tłuszczowe, glicerydy, fosfolipidy, sterole i woski), 20% cukrów (glukoza, fruktoza, maltoza, gencjobioza, sacharoza) i 2,1% składników mineralnych. Znaczącym kwasem tłuszczowym produktu jest kwas 10-hydroksy-2-decenyowy. Wśród witamin najwięcej jest kwasu pantotenowego (B<sub>5</sub>), nikotynowego (prowit. PP) i niacyny (B<sub>3</sub>, PP). Mleczko pszczele jest źródłem hormonów takich jak metamorfoza, juwenilina, estradiol, progesteron, testosteron, acetylcholina oraz kwasów nukleinowych i nukleotydów. Fenyloacetyloglutamina obecna w mleczku pszczelim reguluje działanie genów odpowiedzialnych za proces starzenia się organizmów, co w konsekwencji opóźnia ten proces. Większość składników mleczka pszczelego wykazuje działanie bioaktywne wobec skóry, dlatego zasadne jest wykorzystanie omawianego produktu w kosmetyce. Działa ono wielokierunkowo, tj. odżywczo, biostatycznie, antyoksydacyjnie, przeciwwzapalnie, stymulując na rozwój komórek. Jego działanie ochronne wobec promieniowania UV wynika z obecności kwasu 10-hydroksy-2-decenyowego. Mleczko pszczele jako składnik kosmetyków stosowanych na skórę przyczynia się do powstawania włókien kolagenowych, zatrzymuje wodę, wpływa na funkcje wydzielnicze gruczołów łojowych, zmniejsza stan zapalny, chroni przed niekorzystnymi czynnikami środowiskowymi. Wykazano również jego pozytywne działanie na płytkę paznokciową, włosy i skórę głowy. Produkty kosme-

tyczne z dodatkiem mlecza pszczelego to głównie kremy i lotiony oraz maseczki kosmetyczne, emulsje, balsamy, szampony, mydła i dezodoranty [Trzybiński 2011, Kędzia i Holderna-Kędzia 2020]. Kosmeceutyki z dodatkiem mlecza pszczelego (w ilości 0,5–2%) sprawdzają się w leczeniu chorób dermatologicznych.

### Jad pszczeli

Jad pszczeli jest naturalną toksyną, złożoną pod względem chemicznym. Zawiera on m.in. peptydy (melitynę, apaminę, adolapinę), enzymy (fosfolipazę, hialuronidazę, fosfomonoesterazę kwaśną), a także aminy (histaminę, dopaminę i noradrenalinę). Apitoksyna jest wydzielana przez pszczoły w celu obrony przed drapieżnikami. W celach kosmetycznych jest pozyskiwana od pszczół przez zastosowanie stymulacji elektrycznej. Pozyskany jad jest następnie oczyszczany, rozcieńczany w wodzie, odwirowywany i liofilizowany. Tak otrzymany liofilizat ma postać jasnożółtego proszku i jest surowcem do produkcji kosmetyków [Han i in. 2017].

Złożony skład chemiczny toksyny pszczelej warunkuje szereg jej właściwości biologicznych. Najwyższą aktywnością wśród składników jadu charakteryzują się białka. Enzymy biorą udział w rozkładzie struktury m.in. kwasu hialuronowego oraz innych polisacharydów tkanki łącznej, co umożliwia przenikanie jadu do komórek. Peptydy wykazują działanie przeciwzapalne i przeciwbólowe, zwiększają przepuszczalność naczyń włosowatych i obniżają ciśnienie krwi [Kurek-Górecka i in. 2020]. Dzięki tym właściwościom jad pszczeli jest coraz częściej wykorzystywany nie tylko w celach medycznych, ale również kosmetycznych. Kim i in. [2019] podają, że jad pszczeli daje dobre efekty stosowania przy wielu problemach skórnych, m.in. trądziku, łysieniu androgenowym, atopowym zapaleniu skóry, twardziny ograniczonej (*morphea*), fotostarzeniu, łuszczycy, zmarszczkach. Bakterie *Propionibacterium acnes*, *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus pyrogenes* i *Staphylococcus aureus* bytują na skórze naturalnie, jednak w okresie dojrzewania szybko się namnażają i często przyczyniają się do rozwoju trądziku [Bojar i Holland 2004]. Wyniki badań Hana i in. [2010] wykazały działanie bakteriostatyczne, jak również bakteriobójcze apitoksyny wobec *Propionibacterium acnes* opornego na klindamycynę, *Staphylococcus epidermidis* i *Streptococcus pyrogenes*. Ponadto jad pszczeli jest potencjalnym inhibitorem 5- $\alpha$ -reduktazy (hamuje ekspresję genu SRD5A2 kodującego 5- $\alpha$ -reduktazę), która jest odpowiedzialna za konwersję testosteronu do dihydrotestosteronu i odgrywa ważną rolę jako promotor wzrostu włosów, co jest istotne w przypadku leczenia łysienia androgenowego [Park i in. 2016]. Jad pszczeli zastosowany w kosmetykach jako serum w stężeniu 0,006% w ilości 4 ml dwa razy dziennie przez 12 tygodni spowodował zmniejszenie całkowitej powierzchni zmarszczek, całkowitej ich liczby i głębokości. Ponadto apitoksyna wykazuje działanie antymelanogenne i skutecznie hamuje procesy fotostarzenia [Han i in. 2015].

### Wosk pszczeli

Wosk pszczeli jest naturalnym lipidem wytwarzanym przez gruczoły woskowe pszczoły miodnej. Składa się on głównie z estrów wyższych kwasów tłuszczowych i alkoholi, w niewielkich ilościach zawiera również węglowodory, kwasy i inne substancje.

W kosmetyce wykorzystuje się wosk żółty (*Cera flava*) i wosk biały (*Cera alba*). Wosk biały (pozbawiony zapachu miodu) jest uzyskiwany poprzez chemiczne wybielenie wosku żółtego za pomocą chloru, wody utlenionej, nadmanganianu potasu i wody [Goik i in. 2016]. W kosmetyce wosk pszczeli jest stosowany m.in. jako składnik kremów, maści i balsamów. Wykazuje właściwości antybakteryjne, a stosowany na skórę poprawia jej elastyczność, odświeża i wygładza [Bogdanov 2004]. Wosk pszczeli charakteryzuje się zerowym potencjałem podrażnienia i niskim stopniem komedogenności – jego użycie w kosmetykach nie powoduje problemów z zatykaniem porów. Goik i in. [2016] podają, że wosk pszczeli jest bardzo dobrym składnikiem bazowym produktów kosmetycznych ze względu na brak działania alergizującego. Obecność wosku pszczelego w formule produktów kosmetycznych poprawia wiązanie wody m.in. w kremach pozostawia na skórze film ochronny, wzmacnia właściwości ochronne kremów przeciwsłonecznych. Składnik ten wykazuje również działanie wygładzające naskórek, przyspieszające jego regenerację oraz poprawiające cechy organoleptyczne kosmetyków. Zastosowany w kosmetykach kolorowych, takich jak pomadki, błyszczki czy korektory, zapewnia stabilizację połysku, konsystencji i barwy tych produktów. Kurek-Grójecka i in. [2020] podają, że wosk pszczeli wykazuje także działanie natłuszczające, zmiękczone oraz ogranicza transepidermalną utratę wody z powierzchni skóry. Właściwości te wynikają z obecności steroi, które są również składnikami przestrzeni międzykomórkowej. Skwalen, kwas 10-hydroksy-trans-2-decenyowy i flawonoidy (chryzyna) odpowiadają za właściwości antyseptyczne, chronią skórę przed drobnoustrojami chorobotwórczymi. Wosk pszczeli tworzy na powierzchni skóry film, który stanowi barierę ochronną przed wieloma czynnikami zewnętrznymi. Jednym ze składników wosku jest  $\beta$ -karoten, prekursor witaminy A, która ma właściwości spowolnienia degradacji kolagenu, stymulacji podziałów mitotycznych w naskórku, co prowadzi do szybszej regeneracji skóry po uszkodzeniach.

### **Pylek pszczeli**

Pylek pszczeli jest pyłkiem kwiatowym zebrany i przetworzony przez pszczoły. Jego skład jest bardzo złożony (zidentyfikowano ponad 250 substancji) i zależy m.in. od gatunku roślin, a także rodzaju gleby, strefy klimatycznej i pory roku, w której został zebrany przez pszczoły [Kurek-Górecka i in., 2017]. Pylek pszczeli zawiera białka i aminokwasy (20–40%), w tym aminokwasy egzogenne (10,4%), kwasy nukleinowe oraz nukleoproteidy, węglowodany (15–48%), np. cukry redukujące, głównie glukozę i fruktozę, lipidy (1–22%), m.in. kwasy nasycone: palmitynowy, kaprynowy, arachidowy i laurynowy, kwasy nienasycone:  $\alpha$ -linolenowy (25–55%), linolowy (5–25%), oleinowy, fosfolipidy i fitosterole, witaminy (ok. 1%),  $\beta$ -karoten, witaminy z grupy B, C, biopierwiastki (1–5%): K, Mg, Ca, P, Fe, Zn, Cu, Mn, związki fenolowe (0,2–2,5%): flawonoidy (kempferol i kwercetyna), katechiny oraz kwasy fenolowe (kwas chlorogenowy i ferulowy) oraz inne składniki aktywne: enzymy (trypsyna, celulaza, lipaza, fosfolipaza, inwertaza, diastaza, pepsyna, laktaza,  $\alpha$ - i  $\beta$ -amylaza), substancje bakterio- i grzybobójcze, hormony i kwasy organiczne (jabłkowy, cytrynowy, mlekowy), triterpenowe (ursolowy, oleanolowy) [Piotrowska i in. 2018, Kędzia i Hołderna-Kędzia 2016]. Pylek pszczeli charakteryzuje się szeregiem właściwości odżywczych, regeneracyjnych oraz przeciwstarzeniowych, co znajduje zastosowanie w różnych produktach kosmetycznych, m.in.: kremach, lotionach, śmietankach, balsamach, szminkach, pudrach, w produktach do pielęgnacji



włosów (szamponach przeciwłupieżowych, odżywkach do włosów suchych, łamliwych). Ze względu na obecność aminokwasów siarkowych (głównie cysteiny) stymuluje porost włosów i wzmacnia ich strukturę. Reguluje pracę gruczołów łojowych oraz hamuje przetłuszczanie się skóry głowy. Składniki pyłku pełnią funkcję ochronną dla skóry przed szkodliwym wpływem czynników środowiska zewnętrznego, pozwalają zachować prawidłowe jej nawilżenie oraz odżywienie. Ze względu na efekt wygładzający i odmładzający pyłek jest wykorzystywany w produkcji kremów przeciwzmarszczkowych [Basista 2011]. Piotrowska i in. [2018] wykazali, że zastosowanie kremu z pyłkiem pszczelim spowodowało zarówno subiektywną, jak i obiektywną poprawę nawilżenia zewnętrznych warstw skóry rąk, przy czym nie stwierdzono reakcji uczuleniowych ani innych działań niepożądanych po zastosowaniu kosmetyku. Pyłek pszczeli jest stosowany w kosmetykach w niewielkich stężeniach (0,5–5%). Jego pozytywne działanie na skórę wynika z wysokiej zawartości flawonoidów. Dzięki ich obecności produkty z pyłkiem wzmacniają i uszczelniają naczynia włosowate, czemu sprzyja również wysoka zawartość witaminy C. Z tego względu pyłek pszczeli jest stosowany w kremach dedykowanych cerze naczynkowej. Pyłek pszczeli wpływa również na metabolizm komórek, pobudza ich regenerację i stymuluje podziały mitotyczne. Może być pomocny w pielęgnacji skóry atopowej oraz wrażliwej [Kurek-Grójecka i in. 2020].

### Podsumowanie

Produkty pszczele, ze względu na swoją naturalność i bogaty skład chemiczny, powinny być włączone nie tylko do diety, ale też do codziennej pielęgnacji skóry.

### Bibliografia

- Basista K., 2011. Pyłek kwiatowy – nowy surowiec naturalny, możliwości wykorzystania w lecznictwie i kosmetologii. *Farm. Pol.* 12, 30–33.
- Bertoncelj J., Doberšek U., Jamnik M., Golob T., 2007. Evaluation of the phenolic content, antioxidant activity and colour of Slovenian honey. *Food Chem.* 105, 822–828. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.01.060>
- Bogdanov S., 2004. Beeswax: quality issues today. *Bee World.* 85(3), 46–50. <https://doi.org/10.1080/0005772X.2004.11099623>
- Bojar R.A., Holland K.T., 2004. Acne and Propionibacterium acnes. *Clin Dermatol.* 22(5), 375–379. <https://doi.org/10.1016/j.clindermatol.2004.03.005>
- Dubiago G., Nowak A., Klimowicz A., 2018. Wybrane właściwości miodu szczególnie przydatne w kosmetologii. *Postep. Fitoter.* 19(1), 58–64, <https://doi.org/10.25121/PF.2018.19.1.58>
- Goik U., Goik T., Załęska I., 2016. Właściwości wosku pszczelego i jego zastosowanie w kosmetyce i kosmetologii. *Kosmetol. Estet.* 6 (5), 617–622.
- Han S., Lee K., Yeo J., Baek H., Park K., 2010. Antibacterial and anti-inflammatory effects of honeybee (*apis mellifera*) venom against acne-inducing bacteria. *J. Med. Plants Res.* 4, 459–464.
- Han S.M., Hong I.P., Woo S.O., Chun S.N., Park K.K., Nicholls Y.M., Pak S.C., 2015. The beneficial effects of honeybee-venom serum on facial wrinkles in humans. *Clin. Interv. Aging.* 10, 1587–1592.
- Han S.M., Hong I.P., Woo S.O., Kim S.G., Jang H.R., Park K.K., 2017. Evaluation of the skin phototoxicity and photosensitivity of honeybee venom. *J. Cosmet. Dermatol.* 16, e68–e75.

- IMPAG, Chemicals Poland, 2019. Surowce Kosmetyczne. [https://www.impag.pl/fileadmin/user\\_upload/PL/Files/Personal\\_Care/Publikationen/Surowce\\_Kosmetyczne\\_2019\\_Web.pdf](https://www.impag.pl/fileadmin/user_upload/PL/Files/Personal_Care/Publikationen/Surowce_Kosmetyczne_2019_Web.pdf) [dostęp: 23.03.2021].
- Kędzia B., 2008. Pochodzenie propolisu w świetle teorii i badań naukowych. *Herba Pol.* 54(4), 179–186.
- Kędzia B., Hołderna-Kędzia E., 2016. Skład i właściwości biologiczne pyłku kwiatowego zbieranego przez pszczoły ze szczególnym uwzględnieniem możliwości zastosowania go w kosmetyce. *Post Fitoter.* 17(2), 130–138.
- Kędzia B., Hołderna-Kędzia E., 2020. Apikosmetyka. Miód. propolis, pyłek kwiatowy, mleczko pszczele, jad pszczeli, wosk. Wyd. Borgis, Warszawa.
- Kędzierska-Matyszek M., 2014. Produkty pszczele – znaczenie biologiczne i właściwości lecznicze. *Przem. Spoż.* 11(68), 34–37.
- Kim H., Park S.Y., Lee G., 2019. Potential therapeutic applications of bee venom on skin disease and its mechanisms: a literature review. *Toxins.* 11(7), 374. <https://doi.org/10.3390/toxins11070374>
- Kopczyńska D., Klasik-Ciszewska S., Duda-Grychtoł K., 2018. Produkty pszczele w pielęgnacji skóry. *Med. Rodz.* 21(1), 48–52. <https://doi.org/10.25121/MR.2018.21.1.48>
- Kurek-Górecka A., Balwierz R., Dzierżewicz Z., 2017. Dietetyczne aspekty zastosowania pyłku pszczelego. *Bromat. Chem. Toksykol.* 50(3), 191–200.
- Kurek-Górecka A., Górecki M., Rzepecka-Stojko A., Balwierz R., Stojko J., 2020. Bee products in dermatology and skin care. *Molecules.* 25(3), 556. <https://doi.org/10.3390/molecules25030556>
- Marwicka J., Gałuszka R., Gałuszka G., Podolska A., Żurawski Ł., Niemyskavol K., 2014. Analiza właściwości miodu pszczelego i jego zastosowanie w dietetyce i kosmetyce. *Kosmetol. Estet.* 3(2), 108–110.
- Park S., Erdogan S., Hwang D., Hwang S., Han E.H., Lim Y.H., 2016. Bee venom promotes hair growth in association with inhibiting 5-reductase expression. *Biol. Pharm. Bull.* 39(6), 1060–1068.
- Piotrowska A., Zając M., Tota Ł., Czerwińska O., Totko-Borkusiewicz N., Zuziak R., 2018. Analiza wpływu stosowania kremu z pszczelim pyłkiem kwiatowym na wybrane cechy skóry rąk oceniane subiektywnie i obiektywnie. *Postep. Fitoter.* 19(1), 18–26. <https://doi.org/10.25121/PF.2018.19.1.18>
- Piszcz P., Głód B.K., 2019. Antioxidative Properties of Selected Polish Honeys. *J. Apic. Sci.* 63(1), 81–89. <https://doi.org/10.2478/jas-2019-0003>
- Szeleszczuk Ł., Zielińska-Pisklak M., Goś P., 2013. Propolis – panaceum prosto z ula. *Lek Pol.* 23(6–7), 32–39.
- Tichonow A.I., Bondarenko L.A., Jarnych T.G., Szpyczak O.S., Kowal W.M., Skrypnik–Tichonow R.I., 2017. Miód naturalny w medycynie i farmacji. Pochodzenie, właściwości, zastosowanie, preparaty lecznicze. Wyd. Sądecki Bartnik. Stróże.
- Trzybiński S., 2011. Wszystko o mleczku pszczelim. *Pasieka* 1, 21–23.
- Wieczorek J., Pietrzak M., Pomianowski J., Wieczorek Z., 2014. Honey as a source of bioactive compounds. *Pol. J. Natur. Sci.* 29(3), 275–285.

## **Pleśnie i mykotoksyny w produktach żywnościowych o niskiej i wysokiej aktywności wodnej**

Molds and mycotoxins in food products with low and high water activity

Surowce pochodzenia roślinnego i zwierzęcego oraz produkty żywnościowe są doskonałym miejscem dla rozwoju mikroorganizmów, do których należą zarówno bakterie, jak i grzyby [Kołóżyn-Krajewska 1995]. Dużą grupę stanowią grzyby strzępkowe, które rozwijają się na żywności, powodując jej psucie. Mogą one zanieczyszczać surowce roślinne już podczas uprawy i być zagrożeniem w produkcji [Acosta i in. 2011]. Niektóre pleśnie mają zdolność do wytwarzania toksycznych metabolitów wtórnych, którymi są mykotoksyny [Anjorin i in. 2013]. Janda-Ulfig i Ulfig [2008] podają, że nawet susze ziołowe mogą być źródłem tych metabolitów. Rozwój grzybów pleśniowych, a co za tym idzie – obecność mykotoksyn w produktach żywnościowych, uzależniony jest od czynników środowiskowych, w jakich rozwijają się drobnoustroje. Należą do nich m.in. temperatura, odczyn środowiska, aktywność wody oraz zawartość CO<sub>2</sub> i O<sub>2</sub>.

W literaturze przedmiotu jest wiele opracowań dotyczących mikroorganizmów występujących w żywności i wytwarzanych przez nie metabolitów. Z uwagi na to, że aktywność wodna należy do najistotniejszych czynników determinujących metabolizm mikroorganizmów, jako cel pracy przyjęto wpływ aktywności wody żywności na obecność grzybów pleśniowych i wydzielanych mykotoksyn.

### **Aktywność wody i podział produktów spożywczych według tego parametru**

Woda jest niezbędna w życiu mikroorganizmów z uwagi na to, że jest czynnikiem regulującym wzrost i rozwój mikroorganizmów oraz ośrodkiem, w którym zachodzą wszystkie reakcje chemiczne i enzymatyczne. Bierze ona udział w aktywnej przemianie materii [Drapron, 1985].

W żywności woda jest wiązana przez związki organiczne i nieorganiczne, tj. sól, cukier i białka [Ćwiertniewski i in. 2005, Pałacha i Makarewicz 2011]. Związana woda nie jest jednak bezpośrednio dostępna dla mikroorganizmów. Miarą dostępnej wody dla drobnoustrojów jest aktywność wody (aw). Aktywność wody w żywności warunkuje jej trwałość, a także rozwój określonych grup drobnoustrojów. Definiowana jest jako iloraz ciśnienia pary wodnej żywności do ciśnienia pary wodnej czystej wody w tej samej temperaturze. Wartość czystej wody wynosi 1, zaś 0 odnosi się do otoczenia, w którym nie ma wody [Pałacha i Makarewicz 2011].

---

<sup>1</sup> Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, Wydział Agrobiotechnologii, Katedra Mikrobiologii Środowiskowej, SKN Mikrobiologów „Mikrobios”, justyna.bohacz@up.lublin.pl

Wśród produktów żywnościowych istnieje podział na trzy grupy charakteryzujące się różną aktywnością wody. Jak podają Pałacha i Makarewicz [2011], aktywność wody żywności wilgotnej mieści się w zakresie 1,00–0,90, w żywności o średniej aktywności wody – od 0,90–0,55 i w żywności o niskiej zawartości mieści się w przedziale 0,55–0,00. Od aktywności wody zależy trwałość żywności, jej jakość i właściwości. Wpływa na to między innymi rozwój mikroorganizmów. Dla różnych mikroorganizmów do rozwoju potrzebna jest różna ilość wody – dla bakterii:  $a_w = 0,9$ , dla drożdży:  $a_w = 0,8$ , dla pleśni:  $a_w = 0,7$  [Kowal 2012]. Woda jest niezbędna do przebiegu wielu procesów enzymatycznych [Drapron 1985]. Minimalna wartość  $a_w$  do wytwarzania toksyn znajduje się z reguły zawsze powyżej wartości niezbędnej do wzrostu pleśni [Wieczorek 2003].

Do żywności o wysokiej aktywności wody należą produkty mięsne (surowe, nieprzetworzone mięso oraz mięso poddane obróbce technologicznej), produkty przemysłu tłuszczowego, nabiał oraz żywność szybko się psująca, tj. owoce i ich przetwory: soki i nektary owocowe, warzywa [Dec 2011, Pałacha i Makarewicz 2011]. Zawierają one duże ilości wody niezwiązanej i ogólnie dostępnej dla drobnoustrojów. Do produktów o niskiej aktywności wody należą produkty sypkie, jak mąka żytnia razowa, przyprawy, kakao, mleko w proszku, kawy i herbaty, produkty śniadaniowe, pieczywo chrupkie [Janda-Ulfig i Ulfig 2008, Dec 2011, Pałacha i Makarewicz 2011, Kowalska i in. 2011]. Żywność o niskiej aktywności wody to także koncentraty zup, suszone owoce, kawa, mleko w proszku [Ćwiertniewski i in. 2005].

### **Grzyby pleśniowe i ich metabolity**

Grzyby strzępkowe, potocznie nazywane pleśniami, to szeroko rozpowszechniona w środowisku grupa mikroorganizmów. Charakteryzują się one szybkim wzrostem i zasiedlają różne stanowiska i podłoża [Northolt i in. 1995]. Metabolity grzybów strzępkowych są wykorzystywane w różnych gałęziach przemysłu, m.in. w przemyśle spożywczym do wytwarzania produktów spożywczych. Oprócz tego są źródłem barwników, które mogą być alternatywą dla syntetycznych substancji barwiących używanych w ww. przemyśle [Barszczewska i Grzywnowicz 2013]. Poza tym liczne pleśnie wykorzystuje się do produkcji antybiotyków [Frère i in. 1992, Libudzisz i in. 2008]. Grzyby pleśniowe znane są także z produkcji kwasów organicznych, jak np. kwas cytrynowy [Kałuża i Sadowski 2013], glukonowy [Majewska i Białecka-Florjańczyk 2010], mlekowy [Pałys i Targoński 2013].

Grzyby strzępkowe, oprócz metabolitów mających znaczenie w przemyśle, wytwarzają metabolity wtórne nazywane mykotoksynami. Mykotoksyny to niskocząsteczkowe ( $M < 1,5$  kDa) [Barabasz i Pikulicka 2017] związki wytwarzane jako produkt uboczny w procesach metabolicznych różnych rodzajów grzybów lub jako produkt służący w celach obronnych, wykazujący działanie toksyczne i mający właściwości mutagenne lub teratogenne [Mruczyk i Jeszka 2013]. Do rozwoju pleśni i skażenia produktów żywnościowych mykotoksynami może dojść już w trakcie wegetacji rośliny, podczas transportu, produkcji i magazynowania [Anjorin i in. 2013]. Mykotoksyny wywołują patologiczne zmiany u ludzi i zwierząt, mogą być przyczyną ostrych zatruc o różnym przebiegu oraz zatruc przewlekłych, które powstają często nawet przy przyjęciu małych dawek przez dłuższy czas [Miśniakiewicz 2008].

Wytwarzanie toksyn nie jest stałą cechą pleśni. Zależy od wielu czynników, do których należą m.in. warunki środowiskowe, predyspozycje genetyczne grzybów oraz szlaki przebiegające w ich metabolizmie. Tworzyć je mogą nie tylko typowe saprotrofy, ale także chorobotwórcze – zwłaszcza dla roślin – grzyby. Ilość uwolnionych przez grzyby pleśniowe toksyn zależy od szczepu, składu chemicznego podłoża, na którym rozwijają się pleśnie, wilgotności i temperatury [Pitt 2000].

### Mykotoksyny – podział, występowanie i działanie

Do grzybów najpowszechniej wytwarzających mykotoksyny należą pleśnie z rodzaju *Aspergillus* sp., *Penicillium* sp., *Fusarium* sp. i *Alternaria* sp. [Żakowska i Stobińska 2000, Wieczorek 2003]. Znanych jest około 300 mykotoksyn, jednak niespełna 20 rodzajów jest dość dobrze poznana [Gareis 2006]. Najbardziej istotnych pod względem ekonomicznym i toksykologicznym w skali europejskiej i światowej jest sześć mykotoksyn, do których należą aflatoksyny, ochratoksyna A, deoksyniwalenol, patulina, zearalenon i fumonizyna [Miśniakiewicz 2008]. Związki te odznaczają się wielokierunkowymi działaniami na organizmy żywe i powodują liczne choroby, a nawet są przyczyną śmierci ludzi i zwierząt. Powstają w różnych środowiskach, zaś ich występowaniu sprzyja wilgotność i wiele innych czynników obecnych powszechnie w ludzkim otoczeniu [Burbianka i in. 1983].

Aflatoksyny to przede wszystkim aflatoksyny B1, B2, G1 i G2 produkowane przez niektóre szczepy *Aspergillus flavus* oraz większość szczepów *A. parasiticus* [Pittet 1998]. Aflatoksyny B1 i G1 są najczęściej spotykane w produktach roślinnych i mogą wtórnie gromadzić się w jajach i mięsie oraz mleku [Czerwiecki 1997]. Aflatoksyny, w szczególności B1, należą do substancji rakotwórczych i odpowiadają m.in. za powstawanie nowotworu wątroby.

Ochratoksyny to mykotoksyny produkowane przede wszystkim przez pleśnie z rodzaju *Penicillium* i *Aspergillus*. Najważniejsza ochratoksyna A (OTA) jest wytwarzana przez kilka szczepów grzybów *Aspergillus ochraceus* i *Penicillium verrucosum*. Ochratoksyna A występuje zazwyczaj w produktach źle wysuszonych i nieprawidłowo składowanych. Jeśli skażona pasza zostanie podana zwierzęciu, a zwłaszcza trzodzie chlewnej, możliwa jest akumulacja w mięsie, narządach i krwi [Czerwiecki 1997].

Patulina to mykotoksyna wytwarzana przez pleśnie *Penicillium patulinum*, *P. urticae* oraz *P. chrysogenum*. Może znajdować się w zbożach, pieczywie i produktach mięsnych. Czasami występuje razem z cytryniną. Patulinę można spotkać w nadgniłych owocach, a także w sokach owocowych. U zwierząt spożywających paszę skażoną tą toksyną (np. spleśniałe jabłka) stwierdza się m.in. zwiększoną przepuszczalność naczyń krwionośnych czy uszkodzenia wątroby [Czerwiecki 1997].

Fumonizyny to metabolity wtórne produkowane przez ograniczoną liczbę pleśni z rodzaju *Fusarium*, z których najważniejsze są *F. moniliforme* i *F. proliferatum*. Obecnie znane są trzy naturalnie występujące fumonizyny: B1, B2 oraz B3. Te toksyczne metabolity są przyczyną obrzęku płuc u świń. Mają również zdolność aktywacji nowotworu wątroby u szczurów [Miśniakiewicz 2008, Pittet 1998].

Trichoteceny to toksyny produkowane przez grzyby głównie z rodzaju *Fusarium*, a w szczególności *F. graminearum* i *F. culmorum* na zbożach i jego produktach. Znanych jest ponad 100 rodzajów tych metabolitów wtórnych [Miśniakiewicz 2008, Pittet 1998]. Do

najważniejszych trichotecenów należą: DON (deoksyniwalenol), NIV (niwalenol) oraz DAS (diacetoksyscirpenol). Charakteryzują się one działaniem owadobójczym, przeciwwirusowym, cytotoksycznym, jak również fitotoksycznym [Miśniakiewicz 2008].

Zearalenon (ZEN) jest mykotoksyną wytwarzaną przez grzyby z rodzaju *Fusarium*; zaliczany jest do fitoestrogenów. Występuje najczęściej z trichotecenami na zbożach, zwłaszcza na owsie i kukurydzy. Zearalenon powoduje małą toksyczność ostrą, jest jednak przyczyną bezpłodności i innych pokrewnych chorób [Czerwiecki 1997, Miśniakiewicz 2008, Pittet 1998].

Cytrynina produkowana przez grzyby pleśniowe m.in. z rodzaju *Penicillium* ma właściwości mutagenne, teratogenne, fitotoksyczne i kancerogenne. Często wytwarzaniu cytryniny towarzyszy powstawanie ochratoksyny A [Miśniakiewicz 2008, Czerwiecki 1997, Pittet 1998].

### **Pleśnie i mykotoksyny spotykane w żywności o wysokiej i niskiej aktywności wodnej**

Do najczęściej spotykanych w żywności i na jej powierzchni grzybów pleśniowych należą *Mucoraceae*, jak: *Absidia*, *Mucor*, *Rhizopus* lub *Syncephalastrum* oraz niektóre grzyby z rodzajów *Fusarium*. Do pogorszenia się jakości produktów lub nawet zepsucia się żywności często przyczyniają się grzyby z rodzaju *Aspergillus* sp. i *Penicillium* sp. [Weidenbömer i in. 2000, Wieczorek 2003]. Oba ostatnie z wymienionych rodzaje grzybów często są spotykane na zbożach i ich produktach. Do ich metabolitów wtórnych należą m.in. aflatoksyny i orchatoksyna A [Weidenbömer i in. 2000, Wieczorek 2003]. Szczepy grzybów z rodzaju *Aspergillus* sp. oraz *Penicillium* sp. powszechnie bytują na roślinach uprawnych, ale również są spotykane w pieczywie i produktach mięsnych. Grzyby z rodzaju *Fusarium* sp. są obserwowane w produktach kukurydzianych i samej kukurydzy [Kawa-Rygielska 2009]. W przyprawach i produktach przyprawowych spotykane są pleśnie takie jak *Rhizopus* sp., *Penicillium* sp., *Mucor* sp., *Alternaria* sp. oraz *Cladosporium* sp. [Wójcik-Stopczyńska 2010]. Warzywa są natomiast doskonałym środowiskiem dla bytowania grzybów z rodzaju *Aspergillus* sp., *Cladosporium* sp., *Penicillium* sp., *Fusarium* sp. oraz *Alternaria* sp. [Bis i in. 2010].

Do produktów charakteryzujących się niską aktywnością wodną (zakres aw = 0,00–0,55) można zaliczyć wszelkiego rodzaju mąki (pszenna, żytnia, ziemniaczana), produkty kukurydziane (szczególnie mąki i płatki), ale również makarony, herbaty czy kawy. Produkty te zawierają niewielką ilość wody, która jest silnie związana ze strukturą budującą dany produkt. W związku z tym ilość dostępnej dla drobnoustrojów wody jest niewielka. Na tych produktach rozwijają się jedynie pleśnie, które są w stanie poradzić sobie z trudnymi warunkami do bytowania. Kawa-Rygielska [2009] przebadła 27 prób kukurydzy poddanej różnego rodzaju przemianom (kasze i mąki kukurydziane) na obecność trichotecenów i zearalenonu. Badaczka stwierdziła obecność grzybów z rodzaju *Fusarium* we wszystkich badanych próbach, a mykotoksyn tylko w niektórych. Z kolei Wójcik-Stopczyńska i in. [2010] w swoich badaniach przeprowadzonych na pięciu rodzajach mieszanek przyprawowych wyizolowali siedem rodzajów grzybów pleśniowych, z czego najliczniejszą grupę stanowiły grzyby z rodzaju *Aspergillus*. W mikroflorze wszystkich mieszanek stwierdzono też obecność pleśni z rodzajów *Rhizopus* sp. i *Penicillium* sp., sporadycznie, występowały grzyby z rodzaju *Mucor* sp., *Alternaria* sp., *Cladosporium*

sp. i *Fusarium* sp. Mruczyk i Jeszka [2013] w swojej pracy zauważają, że wśród produktów zbożowych, mąk, jak również kaw często występującą mykotoksyną jest ochratoksyna A, a także zearalenon (ZEA) i deoksyniwalenol (DON).

Z kolei wysoka aktywność wodna ( $aw = 0,90-1,00$ ) charakteryzuje produkty, w których duże ilości wody są dostępne dla mikroorganizmów. W związku z tym w produktach takich swobodnie mogą rozwijać się grzyby strzępkowe. Produkty owocowe należą do tych, które wykazują najwyższą wartość  $aw$  ( $0,95-0,90$ ). Na powierzchni owoców, ale również i produktach z nich wytworzonych, rozwija się wiele rodzajów grzybów strzępkowych. Wśród spotykanych na owocach mykotoksyn jest patulina [Harwig i in. 1973]. Spotykana jest ona w tkankach objętych zgnilizną, głównie w jabłkach. Warzywa również są grupą produktów charakteryzujących się dużą aktywnością wodną i w związku z tym miejscem rozwoju wielu pleśni. Bis i in. [2010] przeprowadzili badania na obecność grzybów pleśniowych oraz mykotoksyn przez nie produkowanych na warzywach korzeniowych i okopowych (marchew, ziemniaki, buraki). Badacze wyizolowali 26 rodzajów grzybów pleśniowych, do których należały m.in. *Aspergillus fumigatus*, grzyby z rodzaju *Cladosporium* sp., *Helminthosporium* sp., *Penicillium* sp., *Fusarium* sp. oraz z gatunku *Alternaria alternaria* i *Aspergillus versicolor*. Część z nich miało zdolność tworzenia toksyn.

### Podsumowanie

W produktach żywnościowych mogą występować różne grzyby pleśniowe z rodzaju *Penicillium* sp., *Apergillus* sp. oraz *Fusarium* sp. Spotykane są również toksyczne metabolity wtórne tych pleśni, do których należą aflatoksyny, ochratoksyna A, deoksyniwalenol, patulina, zearalenon i fumonizyna. Występowanie tych mykotoksyn jest uzależnione od czynników środowiskowych, do których należy m.in. aktywność wodna. Mykotoksyny można spotkać zarówno w produktach żywnościowych charakteryzujących się niską aktywnością wodną (mąki, kawy, makarony), jak i tych o wysokiej wartości  $aw$  (produkty owocowe, mięso, nabiał). Powodują one szereg niekorzystnych zmian oraz mogą prowadzić do wystąpienia chorób lub zwiększać ryzyko ich pojawienia się u ludzi bądź zwierząt.

### Bibliografia

- Acosta A.Y., Rodrigues I., Hofstette U., Binder E. M., 2011. Mycotoxins in silages: occurrence and prevention. Iran. J. Appl. Anim. Sci. 1(1), 1–10.
- Anjorin T.S., Salako E.A., Makun H.A., 2013. Control of toxigenic fungi and mycotoxins with phytochemicals: potentials and challenges. W: Mycotoxin and food safety in developing countries, H.A. Makun (red.). InTech, Croatia, 181. <http://dx.doi.org/10.5772/53477>
- Barabasz W., Pikulicka A., 2017. Mykotoksyny – zagrożenie dla zdrowia ludzi i zwierząt, cz. 1. Mykotoksyny – charakterystyka, występowanie, toksyczność dla organizmów. [Mycotoxins – a threat to human and animal health Part. 1. Mycotoxins-characteristics, occurrence, toxicity]. J. Health Stud. Med. 3, 65–108.
- Barszczewska A.M., Grzywnowicz K., 2013. Barwniki pochodzenia grzybowego – przyszłość czy obawa? W: Tygiel 2012 – czyli jak rozwijać naukę?, K. Maciąg, M. Szala (red.). Politechnika Lubelska, Lublin, 106–110.

- Bis H., Frączek K., Mędreła-Kuder E., 2010. Produkcja mikotoksyn przez grzyby wyizolowane z warzyw okopowych. *Nauka Przyr. Technol.* 4(6), 69.
- Burbianka M., Pliszka A., Burzyńska H., 1983. *Mikrobiologia żywności*. PZWL, Warszawa.
- Ćwiertniewski K., Polak E., Egierski K., 2005. Aktywność wody parametr trwałości produktów spożywczych. *Przem. Spożywczy*, 59(11), 16–19.
- Czerwiecki L., 1997. Mikotoksyny w żywności jako czynnik zagrożenia zdrowotnego. *Żywn. Żyw. Zdr.* 6(4), 292–300.
- Dec D., 2011. Aktywność wody w otrębach i śrutach zbożowych, *Postep. Tech. Przetw. Spoż. Inż. Żywn.* 1, 46–49.
- Drapron R., 1985. Enzyme activity as a function of water activity. W: *Properties of Water in Foods*, D. Simatos, J.L. Multon (red.). NATO ASI Series (Ser. E: Applied Sciences), Springer, Dordrecht, 90, 171–190. [https://doi.org/10.1007/978-94-009-5103-7\\_11](https://doi.org/10.1007/978-94-009-5103-7_11)
- Frère J. M., Nguyen-Distèche M., Coyette J., Joris B., 1992. Mode of action: interaction with the penicillin binding proteins. W: M.I. Page (red.), *The Chemistry of  $\beta$ -Lactams*. Chapman & Hall., Glasgow, 148–197.
- Gareis M., 2006. Mikotoksyny – spojrzenie wstecz. W: *Mikotoksyny i grzyby pleśniowe – zagrożenia dla człowieka i zwierząt*, J. Grajewski (red.). Wyd. UKW, Bydgoszcz.
- Harwig J., Chen Y.K., Kennedy B.P.C., Scott P.M., 1973. Occurrence of patulin and patulin-producing strains of *Penicillium expansum* in natural rots of apple in Canada. *Can. Inst. F. Sci. Tech. J.* 6(1), 22–25. [https://doi.org/10.1016/S0315-5463\(73\)73959-6](https://doi.org/10.1016/S0315-5463(73)73959-6)
- Janda-Ulfig K, Ulfig K., 2008. Susze ziołowe i przyprawy jako źródło mikotoksyn. *Przem. Spoż.* 62(3), 36–38.
- Kałuża M., Sadowski Z., 2013. Optymalizacja bioprodukcji kwasu cytrynowego w hodowli wgłębnnej *Aspergillus niger* prowadzonej w obecności Tweenu 80. *Inż. Ap. Chem.* 52(4), 332–333.
- Kawa-Rygielska J., 2009. Jednoczesna identyfikacja trichotecenów typu A i B oraz zearalenonu w produktach kukurydzianych. *ŻNTJ* 6(67), 112–118.
- Kołożyn-Krajewska D., 1995. Mikroorganizmy w żywności – zagrożenia czy korzyści. *Żywn. Technol. Jakość* 3(4), 21–31.
- Kowal K., 2012. Wpływ aktywności wody na wzrost drobnoustrojów. *Przem. Spoż.* 66(8/9), 50–52.
- Kowska J., Majewska E., Lenart A., 2011. Aktywność wody napoju kakaowego w proszku o zmodyfikowanym składzie surowcowym. *ŻNTJ* 4(77), 57–65.
- Libudzisz Z., Kowal K., Żakowska Z., 2008. *Mikrobiologia techniczna*. PWN, Warszawa.
- Majewska E., Białęcka-Florjańczyk E., 2010. Zielona chemia w przemyśle spożywczym. *Chem. Dydakt. Ekol. Metrol.* 15(1), 21–27.
- Miśniakiewicz M., 2008. Biologiczne zanieczyszczenia żywności. Mikotoksyny. *Zesz. Nauk. Uniwers. Ekonom. w Krakowie*, 781, 113–129.
- Mruczyk K., Jeszka J., 2013. Ocena poziomu zanieczyszczeń mikotoksynami wybranych produktów spożywczych z terenu województwa lubuskiego. *Bromat. Chem. Toksykol.* 46(1), 89–95.
- Northolt M.D., Frisvad J. C., Samson R. A., 1995. Occurrence of food-borne fungi and factors for growth. W: *Introduction to food-borne fungi*, 4th ed., R.A. Samson, E.S. Hoekstra, J.C. Frisvad, O. Filtenborg (red.). Centraalbureau voor Schimmelcultures, Baam, 243–250.
- Pałacha Z., Makarewicz M., 2011. Aktywność wody wybranych grup produktów spożywczych. *Postepy Tech. Przetw. Spoż. Inż. Żywn.* 21(2) 24–29.
- Pałys M., Targoński Z., 2013. Produkcja kwasu mlekowego przez grzyby z rodzaju *Rhizopus*. *Żywn. Nauk. Technol. Ja.* 4(89), 21–36.
- Pitt J.I., 2000. Toxigenic fungi and mycotoxins. *Brit. Med. Bul.* 56(1), 184–192. <https://doi.org/10.1258/0007142001902888>
- Pittet A., 1998. Natural occurrence of mycotoxins in foods and feeds: an update review. *Rev. Med. Vet. (Toulouse)* 149(6), 479–492.



- Weidenbömer M., Wieczorek C., Appel S., Kunz B., 2000. Whole wheat and white wheat flour-the mycobiota and potential mycotoxins. *Food Microbiol.* 1(17), 103–107.  
<https://doi.org/10.1006/fmic.1999.0279>
- Wieczorek C., 2003. Mikologiczne skażenia żywności. *ŻNTJ* 10(3), 119–129.
- Wójcik-Stopczyńska B., Jakowienko P., Jadczyk D., 2010. Ocena mikrobiologicznego zanieczyszczenia świeżej bazylii i mięty. *ŻNTJ* 4(71), 122–131.
- Żakowska Z., Stobińska H. (red.), 2000. *Mikrobiologia i higiena w przemyśle spożywczym*. Wyd. PŁ, Łódź.

## **Oznaczenie potencjału antyoksydacyjnego oraz związków polifenolowych w suszonych produktach zielarskich**

Designation of the antioxidant potential and polyphenolic compounds  
in dried herbal products

Zioła i przyprawy są powszechnie wykorzystywane ze względu na przyjemny aromat, jaki nadają potrawom. Od tysiącleci były wykorzystywane także jako główny surowiec do produkcji kosmetyków [Marzec 2009].

Tymianek, występujący także pod nazwami: macierzanka tymianek, tymian, tymianek właściwy, posiada specyficzny, mocny zapach i lekko pikantny, gorzki smak. Pochodzi z terenów basenu Morza Śródziemnego, ale obecnie uprawiany jest także w innych częściach świata, w tym w Polsce. Był powszechnie stosowany już w starożytności – Grecy używali naparu z tymianku na problemy układu moczowego, w starożytnym Rzymie roślina znalazła zastosowanie przy zdrowotnych kąpielach, a Egipcjanie wykorzystywali ją zarówno w kuchni, jak i przy balsamowaniu zwłok. Dziś, za sprawą swoich licznych właściwości, tymianek jest szeroko stosowany zarówno w kuchni, jak i kosmetyce oraz medycynie naturalnej. Przede wszystkim wykazuje silne właściwości przeciwbakteryjne i przeciwzapalne. Wykorzystywany jest do leczenia dolegliwości układu pokarmowego i moczowego. Pomaga przy biegunkach, zaparciach i niestrawnościach. Dodany do potraw ułatwia ich trawienie i przyspiesza przemianę materii. Ponadto łagodzi schorzenia jelit, żołądka i wątroby. W postaci syropów, naparów i innych środków jest niezastąpiony przy infekcjach gardła, migdałków i jamy ustnej. Ze swoim działaniem rozkurczowym i wykrztuśnym jest także użyteczny jako środek na kaszel. Jako składnik kosmetyków pomaga utrzymać zdrową skórę. Często można go znaleźć w składzie różnorodnych preparatów pielęgnacyjnych, m.in. kremów, żeli do twarzy, szamponów, maści itp. W środki bogate w tymianek powinny zaopatrzyć się osoby z cerą tłustą i trądzikową, zmagające się z łupieżem lub przetłuszczającymi się włosami. Jest on także składnikiem ziołowych past do zębów, gdyż wspomaga regenerację uszkodzonych dziąseł [Witoszyńska i Jendryczko 1994, Olędzka i Szyszkowska 2000, Kaźmierczak i Seidler-Łożykowska 2001].

Rumianek pospolity (*Matricaria chamomilla* L.) to niewielka roślina jednoroczna o dosyć mocnym zapachu, powszechna nie tylko w całej Europie, ale również w Ameryce Północnej, Australii czy Azji. W Polsce rumianek jako chwast polny rośnie na łąkach, w ogrodach, na polach, miedzach i nieużytkach, jednak ze względu na swoje szerokie

---

<sup>1</sup> Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, Wydział Inżynierii Produkcji,  
kinga.krasnicka@gmail.com

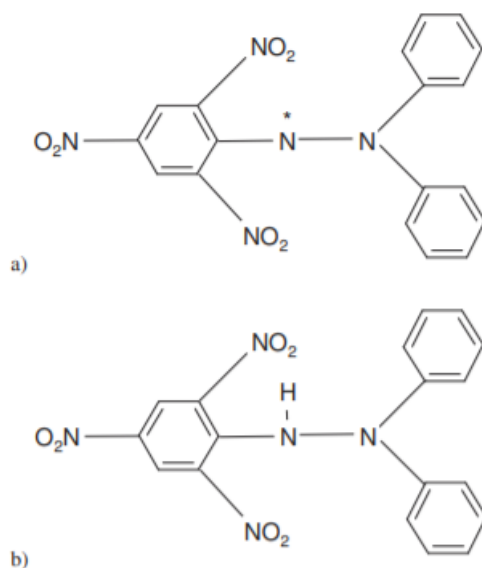
zastosowanie jest uprawiany również na plantacjach. Ma kilka charakterystycznych cech morfologicznych, do których należą pierzastosieczne liście oraz koszyczki składające się od zewnątrz z białych, podłużnych płatków oraz wewnętrznych rurkowatych żółtych kwiatów. Rumianek towarzyszył ludzkości od dawna – pisali o nim już ojcowie medycyny, Hipokrates i Galen. Jego głównym składnikiem leczniczym jest lotny olejek, który po raz pierwszy został wyizolowany w XV w., a więc stosuje się go w lecznictwie już od 500 lat. Ciemnoniebieski kolor olejku zaskakuje, ponieważ większość olejków eterycznych jest żółtawa. Najwięcej olejku eterycznego bogatego w witaminy i minerały znajduje się w kwiatach, dlatego one są najcenniejsze. W kwiatach oprócz flawonoidowych substancji przeciwalergicznych można znaleźć fitosterole, fenolokwasy, spiroeter, garbniki katechinowe, poliacytleny, cholinę, związki kumarynowe i śluzowe oraz sole mineralne. Dzięki tak bogatemu składowi rumianek ma wiele właściwości leczniczych [Zielińska-Pisklak i Szeleszczuk 2013].

Rumianek posiada m.in. właściwości rozkurczające mięśnie gładkie, przeciwzapalne, dezodorujące, przyspieszające gojenie ran, przeciwbakteryjne i pobudzające przemianę materii w skórze. Skutecznie działa też na skurcze i zapalenie żołądka oraz jelit. Można go używać przy zapaleniu skóry i błon śluzowych, a także przy bakteryjnych schorzeniach jamy ustnej. Działanie przeciwbakteryjne oraz przeciwgrzybiczne rumianku wynika z zawartości chamazulenu oraz bisabololu, które działają hamująco na wzrost rozwoju bakterii i grzybów, dzięki czemu ziele jest stosowane pozytywnie jako okład lub składnik maści na trudno gojące się rany, oparzenia słoneczne, owrzodzenia oraz oparzenia termiczne zarówno pierwszego, jak i drugiego stopnia. Dobroczynne działanie kwiatów rumianku docenił też przemysł kosmetyczny, który intensywnie go wykorzystuje. Olejku rumiankowego używa się do produkcji: kremów, balsamów, mydeł, płynów do kąpieli (szczególnie przeznaczonych dla dzieci i osób o wrażliwej skórze), maseczek, szamponów i odżywek do włosów (zwłaszcza blond, ponieważ przywraca im naturalną jasną barwę, oraz przetłuszczających się), a także past do zębów [Grys i in. 2014].

W ostatnich latach obserwuje się wzrastające zainteresowanie zarówno konsumentów, jak i przemysłu farmaceutycznego prozdrowotnymi właściwościami ziół, które wynikają z obecności składników biologicznie czynnych, takich jak: olejki eteryczne, kwas askorbinowy, karotenoidy, chlorofile czy polifenole [Śledź i Witrowa-Rajchert 2012].

Antyoksydanty to związki, które w niewielkich stężeniach ochraniają przed utlenianiem substratu lub znacząco je opóźniają. Produkty roślinne zawierają różne antyoksydanty chroniące przed reakcjami z udziałem już utworzonych wolnych rodników, takie jak antyoksydanty hydrofilowe: glutation i witamina C, antyoksydanty hydrofobowe: witamina E, karotenoidy, ksantofile i zredukowany koenzym Q<sub>10</sub> oraz antocyjaniny, flawonoidy, fitoestrogeny [Bartosz 2003].

W badaniach nad skutecznością antyoksydantów wykorzystuje się ich zdolność do dezaktywacji wolnych rodników. Jedną z najczęściej stosowanych metod jest ta z użyciem odczynnika DPPH (1,1-difenylo-2-pikrylohydrazyl), który jest stabilnym wolnym rodnikiem posiadającym niesparowany elektron na jednym z atomów azotu tworzących mostek azotowy (ryc. 1a). W reakcji z substancją, która może oddać atom wodoru, tworzy formę zredukowaną DPPH (ryc. 1b) [Rice-Evans i in. 1996].



Ryc. 1. DHHP: a) wolny rodnik, b) forma zredukowana [Rice-Evans i in. 1996]

Charakterystyczna dla reakcji jest zmiana barwy z ciemnofioletowej (DPPH•) na żółtą (DPPH-H). Spektrofotometryczny pomiar zaniku fioletowej barwy jest dokonywany przy długości fali  $\lambda = 516$  nm. Miarą mocy antyoksydacyjnej jest różnica absorbancji roztworu DPPH• przed reakcją z antyoksydantem i po niej. Spadek absorbancji jest proporcjonalny do ilości formy utlenionej DPPH, jaka pozostaje w roztworze [Wojdyło i in. 2007].

Związki fenolowe występują powszechnie w roślinach, co powoduje ich obecność w żywności, lekach i kosmetykach. W ostatnich latach określenie zawartości tych związków budzi duże zainteresowanie, co można tłumaczyć tym, że omawiane związki wykazują działanie przeciwutleniające, przeciwzapalne, przeciwbakteryjne oraz konserwujące. Drugą przyczyną jest to, że niejednokrotnie syntetyczne substancje podrażniają skórę, wywołują alergię oraz – w wyniku wchłonięcia przez skórę – mogą przyczyniać się do powstawania różnych schorzeń. W kosmetyce używa się zarówno ekstraktów z całej rośliny, jak i jej określonego składnika chemicznego. Całe rośliny były używane w kosmetyce od tysiącleci, natomiast pojedyncze składniki są wykorzystywane od momentu, w którym ich pozyskiwanie z roślin stało się łatwiejsze [Katalinic i in. 2006, Marzec 2010, Pieszko i Zaremba 2013].

W literaturze można znaleźć wiele doniesień dotyczących oznaczania całkowitej zawartości związków fenolowych w różnego rodzaju próbkach. Najszerzej opisana i jednocześnie stosowana jest metoda Folina–Ciocalteu. Związki fenolowe obecne w próbce utleniają się, natomiast sole kwasów fosfomolibdenowego i fosfowolframowego, które są składnikami odczynnika Folina, ulegają redukcji w środowisku zasadowym – powstający produkt reakcji ma barwę niebieską, stąd ich zawartość można oznaczyć spektrofotometrycznie. Metoda ta wykorzystuje zdolność polifenoli do barwnej reakcji z odczyn-

nikiem Folina, zaś absorbancja mierzona przy długości fali  $\lambda = 756$  nm jest proporcjonalna do całkowitej zawartości związków fenolowych w badanej próbce [Ball 2001, Stanciu i in. 2010].

W niniejszej pracy podjęto próbę oznaczenia potencjału antyoksydacyjnego oraz zawartości polifenoli w dwóch rodzajach ziół – tymianku i rumianku, z wykorzystaniem ww. metod.

### Material i metody

Przed przystąpieniem do pomiaru spektrofotometrycznego część posiadanych surowców poddano procesowi separacji przy użyciu separatora pneumatyczno-sitowego i oddzielono zawarte w nim pyły.

Parametry separacji:

- jedna wielkość sita (sito tkane o otworach kwadratowych),
- dwie prędkości obrotowe głowicy separatora pneumatyczno sitowego,
- trzy prędkości strumienia powietrza,
- trzy czasy realizacji procesu.

Tabela 1. Separator sitowo-pneumatyczny

Sito [ $\mu\text{m}$ ]	Prędkość obrotowa głowicy [ $\text{m}^3/\text{h}$ ]	Natężenie przepływu [ $\text{m}^3/\text{h}$ ]	Czas trwania testu [s]
200	10	20	20
	30	50	40
		70	60

W ten sposób powstało 15 próbek materiału roślinnego – 1 próbka nieodseparowana (testowa) i 7 próbek poddanych procesowi separacji z wykorzystaniem tymianku oraz 1 próbka testowa (nieodseparowana) i 6 próbek z wykorzystaniem rumianku poddanego procesowi separacji.

### Metodyka badań

Odważono około 1 g ( $\pm 0,001$  g) materiału roślinnego, wlewo 15 ml metanolu i utrzymywano w temp.  $40^\circ\text{C}$  przez 24 godziny.

#### Metoda Folina–Ciocâlțeu

Przygotowano roztwór folinu (40 ml na 160 ml wody) oraz roztwór węglańku sodu (20 g na 180 ml wody). Odczynnik Folina–Ciocâlțeu przechowywano bez dostępu światła. Odmierzono 1 ml ekstraktu w przypadku tymianku i 2 ml – w przypadku rumianku, i

przeniesiono do kolb miarowych o pojemności 25 ml. Każdą próbę wykonano w dwóch powtórzeniach, a więc otrzymano w ten sposób 30 kolb: 16 z ekstraktami z tymianku oraz 14 z ekstraktami z rumianku. Dodano 2 ml folinu i odczekano 3 min. Następnie dodano 2 ml węgla sodu, uzupełniono wodą (do kreski) i pozostawiono próbki w ciemności przez 30 min. Absorbancję zmierzono spektrofotometrem przy  $\lambda = 760$  nm (zakres stężeń 0,1–1 mol dm<sup>-3</sup>). Całkowitą zawartość związków polifenolowych metodą Folina–Ciocâlteu oznaczono zgodnie z normą ISO 14502-1:2005. Wyniki wyrażono w równoważnikach kwasu galusowego (mg GAE/l).

## Metoda DPPH

Przed przystąpieniem do badania ekstrakt tymianku rozcieńczono poprzez wymieszanie 30  $\mu$ l ekstraktu z 30  $\mu$ l metanolu. Następnie Roztwór DPPH rozcieńczono tak, aby jego absorbancja przy długości fali  $\lambda = 516$  nm wynosiła 0,95.

Odmierzono po 30  $\mu$ l ekstraktów i przeniesiono do kolb miarowych o pojemności 10 ml. Każdą próbę wykonano w dwóch powtórzeniach. Dodano 5 ml odczynnika DPPH i pozostawiono próbki w ciemności przez 45 minut. Absorbancję zmierzono spektrofotometrem przy  $\lambda = 516$  nm.

Potencjał antyoksydacyjny (aktywność przeciwutleniająca, inhibicję) badanych roztworów wyrażono przez procent inhibicji DPPH. W tym celu z pomiarów uzyskanych z analiz spektrofotometrycznych wyznaczano średnią arytmetyczną, a następnie podstawiano wartości do wzoru [Molyneux 2004]:

$$\% \text{ inhibicji} = 100 (A_0 - A_{sr.})/A_0$$

gdzie:

$A_{sr.}$  – średnia wartość absorbancji badanego roztworu zawierającego antyoksydant;

$A_0$  – absorbancja roztworu rodnika DPPH (0,95).

Badania wykonano przy użyciu spektrofotometru UV-1800 Shimadzu UV Spectrophotometer.

## Wyniki badań

### Tymianek

Ekstrakt 1. uzyskany z tymianku niepoddanego procesowi separacji, zawierający największą ilość zanieczyszczeń, charakteryzuje się także największą ilością związków fenolowych. Kolejne ekstrakty (2–8.) zawierają ich mniej, choć różnica nie jest znacząca – maksymalna różnica występuje między ekstraktem 1. (0,619 mg GAE/l) a ekstraktem 2. (0,586 mg GAE/l) i wynosi 0,033 mg GAE/l. Posiadając jedynie zaprezentowane dane, nie możemy jednoznacznie stwierdzić, że wraz ze wzrostem parametrów procesu separacji zawartość polifenoli w tymianku będzie proporcjonalnie maleć.

Tymianek charakteryzuje się większym potencjałem antyoksydacyjnym niż rumianek, czego dowodem może być fakt, że ekstrakty musiały zostać rozcieńczone 1:1 z metanolem. W przeciwny wypadku przy użyciu próbek pierwotnych odczynnik DPPH odbarwiał się do samego końca – otrzymane wyniki oscylowały w okolicach 0.

Tabela 2. Parametry separacji tymianku

Próba	Oznaczenie
1	tymianek przed separacją (ekstrakt 1.)
2	tymianek po separacji (ekstrakt 2.), parametry procesu – prędkość obrotowa głowicy 10 m <sup>3</sup> /h, natężenie przepływu 20 m <sup>3</sup> /h, czas trwania procesu 20 s
3	ekstrakt 3. – prędkość 10 m <sup>3</sup> /h, natężenie 20 m <sup>3</sup> /h, czas 40 s
4	ekstrakt 4. – prędkość 10 m <sup>3</sup> /h, natężenie 20 m <sup>3</sup> /h, czas 60 s
5	ekstrakt 5. – prędkość 10 m <sup>3</sup> /h, natężenie 50 m <sup>3</sup> /h, czas 20 s
6	ekstrakt 6. – prędkość 10 m <sup>3</sup> /h, natężenie 50 m <sup>3</sup> /h, czas 40 s
7	ekstrakt 7. – prędkość 10 m <sup>3</sup> /h, natężenie 50 m <sup>3</sup> /h, czas 60 s
8	ekstrakt 8. – prędkość 10 m <sup>3</sup> /h, natężenie 70 m <sup>3</sup> /h, czas 20 s

Tabela 3. Zawartość polifenoli w tymianku

Badany roztwór	Zawartość polifenoli [mg GAE/l]
próba 1.	0,618 ±0,001
próba 2.	0,599 ±0,013
próba 3.	0,603 ±0,002
próba 4.	0,603 ±0,007
próba 5.	0,608 ±0,009
próba 6.	0,607 ±0,009
próba 7.	0,596 ±0,005
próba 8.	0,611 ±0,004

Tabela 4. Procent inhibicji tymianku (w %)

Badany roztwór	Średnia wartość absorbancji A <sub>sr.</sub>	Procent inhibicji [%]
próba 1.	0,495	47,89
próba 2.	0,399	58,00
próba 3.	0,486	48,84
próba 4.	0,329	65,37
próba 5.	0,310	67,37
próba 6.	0,416	56,21
próba 7.	0,502	47,16
próba 8.	0,286	69,89

Z otrzymanych wyników można wnioskować, że inaczej niż w przypadku zawartości związków polifenolowych poddanie surowca procesowi separacji nie sprawia, że ma on także mniejszy potencjał antyoksydacyjny. Wręcz przeciwnie – ekstrakt 1., uzyskany z tymianku niepoddanego procesowi separacji, charakteryzuje się jednym z najmniejszych wartości procentu inhibicji – 47,89, natomiast próbkę 8., uzyskaną z surowca poddanego procesowi separacji przy największych parametrach procesu, cechuje także największy potencjał antyoksydacyjny – 69,89.

## Rumianek

Tabela 5. Parametry separacji rumianku

Próba	Oznaczenie
1	rumianek przed separacją (ekstrakt 1.)
2	rumianek po separacji (ekstrakt 2.), parametry procesu – prędkość obrotowa głowicy 10 m <sup>3</sup> /h, natężenie przepływu 70 m <sup>3</sup> /h, czas trwania procesu 20 s
3	ekstrakt 3. – prędkość 10 m <sup>3</sup> /h, natężenie 70 m <sup>3</sup> /h, czas 40 s
4	ekstrakt 4. – prędkość 10 m <sup>3</sup> /h, natężenie 70 m <sup>3</sup> /h, czas 60 s
5	ekstrakt 5. – prędkość 30 m <sup>3</sup> /h, natężenie 20 m <sup>3</sup> /h, czas 20 s
6	ekstrakt 6. – prędkość 30 m <sup>3</sup> /h, natężenie 20 m <sup>3</sup> /h, czas 40 s
7	ekstrakt 7. – prędkość 30 m <sup>3</sup> /h, natężenie 20 m <sup>3</sup> /h, czas 60 s

Tabela 6. Zawartość polifenoli w rumianku (w mg GAE/l)

Badany roztwór	Zawartość polifenoli [mg GAE/l]
próba 1.	0,495 ±0,002
próba 2.	0,46 ±0,005
próba 3.	0,471 ±0,006
próba 4.	0,475 ±0,007
próba 5.	0,475 ±0,005
próba 6.	0,448 ±0,019
próba 7.	0,42 ±0,006

W przypadku rumianku również ekstrakt 1., pozyskany z próbki, która nie została poddana procesowi separacji, zawiera największą ilość związków fenolowych. Tutaj jednak zdecydowanie bardziej niż w przypadku tymianku, można zaobserwować spadek zawartości polifenoli wraz ze wzrostem parametrów procesu separacji – widoczne jest to szczególnie w przypadku ekstraktów 6. i 7. Maksymalna różnica w zawartości polifenoli między ekstraktem 1. (0,496 mg GAE/l) a 7. (0,414 mg GAE/l) wynosi 0,082 mg GAE/l, czyli około 2,5-krotnie więcej niż w przypadku tymianku. Przyczyną takiego zjawiska może być to, że rumianek ma mniejszy średni wymiar cząstek niż tymianek – część cząstek rumianku zostaje odseparowana wraz z pyłami, co skutkuje także utratą części zawartych z nim składników biologicznie czynnych, w tym związków fenolowych.



Tabela 7. Procent inhibicji rumianku (w %)

Badany roztwór	Średnia wartość absorbancji $A_{sr}$	Procent inhibicji [%]
próba 1	0,732	22,94
próba 2	0,578	39,16
próba 3	0,581	38,84
próba 4	0,662	30,37
próba 5	0,607	36,16
próba 6	0,617	35,05
próba 7	0,422	55,63

W przypadku rumianku, tak samo jak i tymianku, proces separacji nie wpływa na spadek potencjału antyoksydacyjnego. Tutaj także próba 1., otrzymana z surowca niepoddanego procesowi separacji, charakteryzuje się najmniejszym procentem inhibicji – 22,94, natomiast próba 7., z surowca poddanego procesowi separacji przy największych parametrach procesu, wykazuje największy potencjał antyoksydacyjny 55,63.

### Podsumowanie

Badane zioła poddano procesowi separacji w separatorze pneumatyczno-sitowym, przy różnych parametrach procesu, w celu zbadania wpływu oddzielenia pyłów na zawartość związków polifenolowych oraz potencjał antyoksydacyjny. Zarówno w przypadku tymianku, jak i rumianku separacja oddziaływała na zmniejszenie zawartości polifenoli, natomiast nie stwierdzono bezpośredniego wpływu procesu na potencjał antyoksydacyjny.

Tymianek oraz rumianek, niepoddane procesowi separacji, cechowały się największą zawartością związków polifenolowych – odpowiednio:  $0,618 \pm 0,001$  i  $0,495 \pm 0,002$ . Najniższą ich zawartość odnotowano w przypadku ekstraktu 2. z tymianku odseparowanego przy parametrach procesu – wielkość sita 200  $\mu\text{m}$ , prędkość obrotowa głowicy 10  $\text{m}^3/\text{h}$ , natężenie przepływu 20  $\text{m}^3/\text{h}$ , czas trwania procesu 20 s ( $0,599 \pm 0,013$ ), oraz ekstraktu 7. Z rumianku poddanego separacji przy wielkości sita 200  $\mu\text{m}$ , prędkości 30  $\text{m}^3/\text{h}$ , natężeniu 20  $\text{m}^3/\text{h}$  i w czasie 60 s ( $0,42 \pm 0,006$ ).

Chociaż ekstrakt powstały z tymianku niepoddanego procesowi separacji charakteryzował się największą zawartością związków polifenolowych, posiada on także jedną z najniższych wartości procentu inhibicji – na poziomie 47,89. Niższy (47,16%) ma jedynie ekstrakt z tymianku odseparowanego przy parametrach procesu wielkość sita 200  $\mu\text{m}$ , prędkości obrotowej głowicy 10  $\text{m}^3/\text{h}$ , natężeniu przepływu 50  $\text{m}^3/\text{h}$ , w czasie 60 s. Natomiast najwyższy (69,89%) uzyskał ekstrakt z tymianku przy wielkości sita 200  $\mu\text{m}$ , prędkości 10  $\text{m}^3/\text{h}$ , natężeniu 70  $\text{m}^3/\text{h}$ , w czasie 20 s. W przypadku rumianku wyniki są podobne: próba 1., otrzymana z surowca niepoddanego procesowi separacji, charakteryzuje się najmniejszym procentem inhibicji – 22,94, natomiast próba 7., z surowca poddanego procesowi separacji przy parametrach procesu: wielkość sita 200  $\mu\text{m}$ , prędkość 30  $\text{m}^3/\text{h}$ , natężenie 20  $\text{m}^3/\text{h}$ , czas 60 s, wykazuje największy potencjał antyoksydacyjny – na poziomie 55,63%.

Porównując wyniki badań tymianku i rumianku przed procesem separacji, można stwierdzić, że pierwszy z wymienionych surowców charakteryzuje się zarówno większą zawartością związków polifenolowych, jak i wyższym potencjałem antyoksydacyjnym. Dotyczy to również ekstraktów powstałych z ww. surowców po procesie separacji, jednak należy wziąć pod uwagę to, że rumianek został poddany separacji przy innych parametrach procesu.

## Bibliografia

- Ball S., 2001. Antyoksydanty w medycynie i zdrowiu człowieka. Wyd. Medyk, Warszawa.
- Bartosz G., 2003. Druga twarz tlenu. WN PWN, Warszawa.
- Grys A., Kania M., Baraniak J., 2014. Rumianek – pospolita roślina zielarska o różnorodnych właściwościach biologicznych i leczniczych. *Post Fitoter* 2, 90–93.
- ISO 14502-1:2005. Determination of substances characteristic of green and black tea. Part 1: Content of total polyphenols in tea. Colorimetric method using Folin-Ciocalteu reagent.
- Katalinic V., Milos M., Kulisic T., Jukic M., 2006. Screening of 70 medical plant extracts for antioxidant capacity and total phenols. *Food Chem.* 94(4), 550–557.
- Kaźmierczak K., Seidler-Łożykowska K., 2001. Hodowla roślin przyprawowych w IRiPZ. *Annales* 9, supl., 307–310.
- Marzec A., 2009. Chemia kosmetyków, surowce, półprodukty, preparatyka wyrobów. TNOiK Dom Organizatora, Toruń.
- Marzec A., 2010. Chemia nowoczesnych kosmetyków, substancje aktywne w preparatach i zabiegach kosmetycznych. TNOiK Dom Organizatora, Toruń.
- Molyneux P., 2004. The use of stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *J. Sci. Technol.* 26, 211–219.
- Olędzka R., Szyszkowska E., 2000. Badanie zawartości pierwiastków w wybranych gatunkach ziół oraz w ich naparach. *Bromat. Chem. Toksykol.* 33, 311–316.
- Pieszko C., Zaremba A., 2013. Zawartość związków fenolowych w ekstraktach z próbek materiału roślinnego. *Bromat. Chem. Toksykol.* 46(4), 434–439.
- Rice-Evans C.A., Miller N.J., Paganga G., 1996. Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acid. *Free Radic. Biol. Med.* 20(7), 933–956.
- Stanciu G., Chirila E., Dobrinas S., Negreanu-Pirjol T., 2010. Studies regarding the determination of antioxidant properties of new plant extracts for cosmetic purposes. *Rev. Chim.* 61(1), 41–44.
- Śledź M., Witrowa-Rajchert D., 2012. Składniki biologicznie czynne w suszonych ziołach – czy ciągle aktywne? *Kosmos* 61(2), 319–329.
- Witoszyńska T., Jendryczko A., 1994. Rośliny lecznicze naturalnym źródłem mikroelementów. *Wiad. Ziel.* 4, 8–9.
- Wojdyło A., Oszmiański J., Czemerys R., 2007. Antioxidant activity and phenolic compounds in 32 selected herbs. *Food Chem.* 105(3), 940–949.
- Zielińska-Pisklak M., Szeleszczuk Ł., 2013. Rumianek lekarski – dlaczego warto mieć go w domowej apteczce. *Lek Pol.* 9(23), 72–79.

## Biofilm bakteryjny w produkcji żywności

### Bacterial biofilm in food processing

Przemysł spożywczy zmienia się nieustannie w celu zaspokojenia potrzeb konsumentów. Opracowywane są coraz nowsze metody produkcji żywności, konserwacji, a także dezynfekcji powierzchni oraz urządzeń. Pomimo dbałości o jak najwyższą jakość i czystość mikrobiologiczną produktów, biofilm bakteryjny wciąż stanowi zagrożenie dla zdrowia ludzi. Szacuje się, że nawet 65–80% infekcji u ludzi jest związanych z biofilmem bakteryjnym [Jamal i in. 2018]. Według WHO co roku w Europie ponad 23 miliony osób cierpią z powodu zatruc pokarmowych, a 5000 osób umiera w wyniku zakażenia patogenami zanieczyszczającymi żywność i wodę [WHO, 2017]. Biofilm stanowi nie tylko zagrożenie dla zdrowia ludzi, ale również przyczynia się do ponoszenia strat w produkcji żywności. Pojawienie się biofilmu w danej linii produkcyjnej prowadzi do stałego i ciągłego zanieczyszczenia końcowego produktu [Van Houdt i Michiels, 2010].

### Mechanizm powstawania biofilmu

Przez wiele lat sądzono, że w naturalnym środowisku bakterie występują wyłącznie w postaci planktonu bakteryjnego, czyli pojedynczych komórek zawieszonych w płynie lub wolno rozproszonych na powierzchniach. Obserwacje wzrostu mikroorganizmów doprowadziły jednak do wniosków, że bakterie mogą przylegać do pewnych powierzchni, a następnie tworzyć złożone struktury, przypominające samodzielne ekosystemy. Dzieje się tak dzięki złożonym mechanizmom, za które odpowiada ekspresja specyficznych genów [Donlan 2002].

Formowanie się biofilmu rozpoczyna się adhezją pojedynczej komórki bakteryjnej do powierzchni. Czynniki indukujące powstawanie biofilmu to m.in. pH środowiska, temperatura, stężenia gazów (tlenu, dwutlenku węgla), temperatura. Warunki, w których dochodzi do powstania biofilmu, różnią się jednak u poszczególnych gatunków bakterii. Niektóre z nich przylegają do powierzchni, gdy warunki otaczającego środowiska są niekorzystne. Inne zupełnie przeciwnie – rozpoczynają proces powstawania biofilmu, gdy warunki są optymalne do życia [O'Toole i in. 2000]. Adhezja może być odwracalna lub nieodwracalna [Armburster i Parsek 2018]. Jeśli dojdzie do nieodwracalnej adhezji, rozpoczyna się właściwy proces powstawania biofilmu. Komórka, która uległa adhezji do podłoża, dzieli się. Bakterie są przytwierdzone do podłoża, natomiast nie są jeszcze stale połączone między sobą. Tworzą tzw. *monolayer*, czyli pojedynczą warstwę komórek [van Loosdrecht i in.

---

<sup>1</sup> Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, Wydział Nauk o Żywności i Biotechnologii, tosiakr@gmail.com

1990]. Mikrokolonie rozrastają się, tworząc makrokolonie rozdzielone przestrzeniami wypełnionymi płynem, co nazywane jest procesem dojrzewania biofilmu. Wolne przestrzenie pomiędzy komórkami pełnią kilka funkcji, m.in. ułatwiają transport tlenu i substancji odżywczych oraz usuwanie związków toksycznych i niepotrzebnych produktów przemiany materii. W tym etapie zachodzi bardzo intensywna produkcja egzopolisacharydów, dzięki którym w biofilmie tworzy się oddzielne środowisko; biofilm zyskuje dużą oporność na działanie czynników bakteriobójczych [Hinsa i in. 2003].

Bakterie znajdujące się w dojrzałym biofilmie różnią się znacznie fenotypowo od bakterii występujących w formie planktonu. Zachodzą w nich też zmiany w metabolizmie komórkowym. Pojedyncze komórki mają możliwość odłączenia się od dojrzałego biofilmu i kolonizowania innych miejsc na sąsiadującej powierzchni [Crouzet i in. 2014].

### **Mikroorganizmy wchodzące w skład biofilmu**

Biofilmy obserwowane w przemyśle spożywczym składają się z wielu gatunków bakterii. Wielogatunkowość biofilmu zapewnia mu wiele zalet. Im większe zróżnicowanie gatunkowe, tym większa jest odporność biofilmu na czynniki zewnętrzne i środki dezynfekcyjne. Jest to najprawdopodobniej spowodowane tym, że zwiększenie zróżnicowania gatunkowego prowadzi do wydzielania większej ilości egzopolisacharydów [Jahid i Ha 2014]. Wielogatunkowe biofilmy odznaczają się też większą łatwością w przyczepianiu się do powierzchni. Produkty spożywcze są narażone na występowanie w nich niektórych patogenów. Wiele z tych patogenów ma zdolność tworzenia biofilmu [Gailé i in. 2018]. Biofilm tworzą zarówno bakterie Gram-dodatnie, jak i Gram-ujemne [O'Toole i in. 2000]. W skład biofilmów bakteryjnych zanieczyszczających żywność wchodzi m.in. *Pseudomonas fluorescens* [Meliani i Bensoltane 2015], enterokrwotoczny szczep *Escherichia coli* O157:H7 [Liao 2007], *Bacillus subtilis* [Morikawa 2006], *Bacillus cereus* [Kwon i in. 2017], *Listeria monocytogenes* [Liao, 2007], *Salmonella enterica* [Corcoran i in. 2014], *Staphylococcus aureus*. Poza patogenami w biofilmach obserwuje się obecność bakterii kwasu mlekowego [Kubota i in. 2008] czy innej mikroflory naturalnie występującej na danych produktach spożywczych [Liao 2007].

### **Problemy w przemyśle spożywczym spowodowane obecnością biofilmu**

Przemysł spożywczy ponosi co roku ogromne straty finansowe z powodu występowania biofilmu bakteryjnego. Produkty zanieczyszczone mikroorganizmami nie spełniają oczekiwań konsumentów, nie mogą zostać sprzedane ze względu na stanowienie potencjalnego źródła zakażenia [Brooks i Flint 2008]. Każdy etap procesu produkcyjnego jest narażony na występowanie w nim biofilmu. Biofilm może trafić do zakładu przetwórstwa już z surowcem, który ma zostać poddany obróbce. Dzieje się tak choćby w przypadku warzyw liściastych, np. sałaty, szpinaku, które trafiają następnie do sałatek i innych gotowych do spożycia produktów. Tego typu sałatki bywają źródłem infekcji bakteriami *Escherichia coli* O157:H7, *Listeria monocytogenes* [Ólmez i Temur 2010]. Biofilm bakteryjny sprawia szczególne trudności w systemach mycia urządzeń. Udowodniono, że może dochodzić do gromadzenia się bakterii w systemach mycia CIP (ang. *clean in*

place). Ten typ usuwania zanieczyszczeń jest wykorzystywany szczególnie przy wytwarzaniu produktów płynnych, m.in. mlecznych, soków. System mycia CIP, w którym znajduje się biofilm, może być źródłem zanieczyszczenia dla dalszych etapów produkcji [Kumar i Anand 1998]. W przemyśle mleczarskim bakterie tworzące biofilm prowadzą również do psucia się mleka i obniżenia walorów smakowych. Mleko staje się gorzkie w wyniku działania bakterii *Bacillus subtilis* oraz *Bacillus cereus* [Vishwakarma 2019]. Inne miejsca w liniach produkcyjnych także są narażone na powstawanie biofilmu. Na przykład jego nagromadzenie może prowadzić do zapychania się rur i zmniejszenia przepływu cieczy. Problem przepływu cieczy dotyczy także systemów filtracji. Biofilm zatyka pory w różnego rodzaju membranach, co prowadzi do obniżenia ciśnienia cieczy. W rurach i na innych powierzchniach metalowych może dochodzić do korozji spowodowanej biofilmem [Nahar i in. 2018]. Związana z nią jest m.in. *Bacillus subtilis* [Kwon i in. 2017]. Biofilm tworzy się na wszelkich powierzchniach w fabrykach, m.in. na podłogach, szkle, stali nierdzewnej, gumie [Kumar i Anand 1998]. Biofilm bakteryjny może powstawać także w systemach dostarczających wodę pitną [Liu i in. 2016]. Również mikroorganizmy nieszkodliwe dla zdrowia człowieka mogą stanowić problem w przemyśle spożywczym. Bakterie z rodzaju *Lactobacillus* nie wykazują patogenności, jednak nie są pożądane w browarnictwie, ponieważ przyczyniają się do obniżenia właściwości organoleptycznych poprzez zakwaszenie [Timke 2004].

Tabela 1. Najczęstsze miejsca występowania biofilmu bakteryjnego zawierającego dane gatunki mikroorganizmów

Mikroorganizm	Miejsca występowania biofilmu	Źródło
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	odpływy, podłogi, powierzchnia warzyw, owoców oraz mięsa	Meliani i Bensoltane 2015
<i>Escherichia coli</i> O157:H7	powierzchnie ze stali nierdzewnej w ubojniach i zakładach przetwórstwa mięsa wieprzowego, warzywa liściaste	Marouani-Gadri i in. 2009, Ölmez i Temur 2010
<i>Salmonella</i> spp.	sprzęt używany do obróbki i mycia surowego mięsa	Corcoran i in. 2014
<i>Salmonella enterica</i>	powierzchnie plastikowe, cementowe i ze stali nierdzewnej	Joseph i in. 2001
<i>Bacillus subtilis</i>	granice faz woda–powietrze (powierzchnie cieczy), mleczarstwo	Morikawa 2006, Vishwakarma 2019
<i>Bacillus cereus</i>	powierzchnie plastikowe, szklane i ze stali nierdzewnej, mleczarstwo	Kwon i in. 2017, Vishwakarma 2019
<i>Listeria monocytogenes</i>	powierzchnie ze stali nierdzewnej	Carpentier i Chassaing 2004
<i>Staphylococcus aureus</i>	ubojnie, rury, odzież robocza	Miao i in. 2017
<i>Pediococcus damnosus</i>	rozlewnie piwa	Timke 2004
<i>Lactobacillus brevis</i> , <i>L. lindneri</i>	rozlewnie piwa	Timke 2004

## Zapobieganie powstawaniu biofilmu

Podstawowym sposobem zapobiegania powstawaniu biofilmu jest dobrze zaprojektowana przestrzeń w zakładzie przetwórczym. Należy unikać w planowaniu pozostawiania niezagospodarowanych przestrzeni trudnych do czyszczenia, wilgotnych i ciepłych miejsc bez odpowiedniej wentylacji. O szczególną higienę należy dbać w przypadku zasobników i uszchelek. Jednak nawet najlepsze rozplanowanie linii i najprostsze rozwiązania w budowie nie uchronią przed powstaniem biofilmu [Møretro i in. 2012]. Najistotniejszym procesem zapobiegającym powstawaniu biofilmu jest proces mycia. Może ono usunąć do 90% mikroorganizmów tworzących biofilm, jednak nie zabija wszystkich bakterii. Ponadto proces ten może sprzyjać powstawaniu aerozolu, za którego pośrednictwem bakterie mogą trafiać w inne miejsca w pobliżu czyszczonego miejsca. Ważna jest również częstota mycia urządzeń. W przypadku produktów mlecznych mycie sprzętu powinno się przeprowadzać nawet kilka razy dziennie, ponieważ biofilm może powstać nawet w kilka godzin. Zaobserwowano przypadki, gdzie do rozwoju biofilmu doszło w ciągu 8 godzin na przenośniku taśmowym w fabryce lodów [Cappitelli i in. 2014]. Do nowoczesnych metod zapobiegania powstawaniu biofilmu należą: powlekanie powierzchni biosurfaktantami [Flint i in. 1997] lub biopolimerami, np. 3-N,N,N-trietanoloaminopropylem, które uniemożliwiają adhezję mikroorganizmów [Kregiel 2013]. W zapobieganiu powstawaniu biofilmu zastosowanie znalazły bakteriocyny, które są produkowane przez bakterie kwasu mlekowego, szczególnie takie, które mają status GRAS (ang. *generally recognized as safe*). Bakteriocyny, poza właściwościami zapobiegającymi adhezji, przedłużają również datę przydatności produktu do spożycia [Gailé i in. 2018]. Także produkty pochodzenia roślinnego znalazły zastosowanie w prewencji powstawania biofilmu. Olejki eteryczne z cynamonowca wonnego i szałwii lekarskiej wykazywały działanie bio-bójcze dla *Staphylococcus aureus* [Campana i in. 2017].

## Metody usuwania biofilmu

Mechaniczne usuwanie biofilmu bakteryjnego poprzez mycie oraz zastosowanie środków dezynfekcyjnych nie jest wystarczające, aby w pełni go wyeliminować. W odpowiedzi na ten problem pojawia się coraz więcej nowoczesnych technik usuwania biofilmu. Pierwszą z nich jest zastosowanie enzymów bakteryjnych. Mają one szereg możliwych działań przeciwko bakteriom znajdującym się w biofilmie – blokują przekazywanie sygnałów w biofilmie (Quorum-Sensing), działają proteolitycznie, degradując polisacharydy, utleniające. Prowadzi to do zniszczenia struktury biofilmu, lizy komórek, degradacji składników odżywczych [Meireles i in. 2016]. Obiecującą metodą walki z biofilmem jest również zastosowanie bakteriofagów, które niszczą bakterie w cyklu lizogenicznym, m.in. T4 oraz E27. Bakteriofagi mogą zakłócać procesy zachodzące w biofilmie lub nawet samodzielnie go niszczyć. Najlepsze efekty w tej metodzie uzyskuje się przy równoczesnym stosowaniu enzymów lub środków bakteriobójczych. Skutecznie usuwa się biofilmy składające się m.in. z *E. coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas fluorescens*, *Listeria monocytogenes* [Satpathy i in. 2016]. Zastosowanie znalazły również różne metody fizyczne, jak zimna plazma, ultradźwięki, pole elektryczne i magnetyczne

czy promieniowanie jonizujące. Warto zaznaczyć, że tego typu techniki są zupełnie neutralne dla środowiska, gdyż nie wykorzystuje się w nich żadnych związków chemicznych [Liu i in. 2021].

## Podsumowanie

Biofilm bakteryjny niewątpliwie nadal stanowi wyzwanie dla przemysłu spożywczego pomimo jego dynamicznego rozwoju i opracowywania nowoczesnych rozwiązań. Zrozumienie procesów zachodzących w biofilmie oraz prowadzenie badań nad walką z tym zjawiskiem pozwoli ograniczyć straty żywności i liczbę zachorowań spowodowanych spożyciem zanieczyszczonej mikroorganizmami żywności. Zwiększająca się świadomość konsumentów powoduje, że oczekiwania co do jakości sprzedawanych produktów spożywczych są coraz większe. Nowoczesne techniki usuwania i zapobiegania powstawaniu biofilmu są coraz bardziej przyjazne dla środowiska i pozwalają na ograniczenie stosowanych konserwantów.

## Bibliografia

- Armbruster C.R., Parsek M.R., 2018. New insight into the early stages of biofilm formation. PNAS 115(17), 4317–4319. <https://doi.org/10.1073/pnas.1804084115>
- Brooks J., Flint S.H., 2008. Biofilms in the food industry: problems and potential solutions. Int. J. Food Sci. Technol. 43, 2163–2176. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2008.01839.x>
- Campana R, Casettari L., Fagioli L., Cespi M., Bonacucina G., Baffone W., 2017. Activity of essential oil-based microemulsions against *Staphylococcus aureus* biofilms developed on stainless steel surface in different culture media and growth conditions. Int. J. Food Microbiol. 241(16), 132–140. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2016.10.021>
- Cappitelli F., Polo A., Villa F., 2014. Biofilm formation in food processing environments is still poorly understood and controlled. Food Engin. Rev. 6(1–2), 29–42. <https://doi.org/10.1007/s12393-014-9077-8>
- Carpentier B., Chassaing D., 2004. Interactions in biofilms between *Listeria monocytogenes* and resident microorganisms from food industry premises. Int. J. Food Microbiol. 97(2), 111–122. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2004.03.031>
- Corcoran M., Morris D., De Lappe N., O'Connor J., Lalor P., Dockery P., Cormican M., 2014. Commonly used disinfectants fail to eradicate *Salmonella enterica* biofilms from food contact surface materials. Appl. Environ. Microbiol. 80(4), 1507–1514. <https://doi.org/10.1128/AEM.03109-13>
- Crouzet M., Le Senechal C., Brözel V. S., Costaglioli P., Barthe C., Bonneu M., Garbay B., Vilain S., 2014. Exploring early steps in biofilm formation: set-up of an experimental system for molecular studies. BMC Microbiology 14, 253. <https://doi.org/10.1186/s12866-014-0253-z>
- Donlan R.M., 2002. Biofilms: microbial life on surfaces. Emerg. Infect. Dis. 8(9), 881–890. <https://doi.org/10.3201/eid0809.020063>
- Flint S., Bremer P.J., Brooks J.D., 1997. Biofilms in dairy manufacturing plant-description, current concerns and methods of control. Biofouling J. Bioadhes. Biofilm Res. 11(1), 81–97. <http://dx.doi.org/10.1080/08927019709378321>
- Gailé S., García-Gutiérrez C., Miguélez E. M., Villar C. J., Lombó F., 2018. Biofilms in the food industry: health aspects and control methods. Front. Microbiol. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.00898>

- Hinsa S.M., Espinosa-Urgel M., Ramos J.L., O'Toole G.A., 2003. Transition from reversible to irreversible attachment during biofilm formation by *Pseudomonas fluorescens* WCS365 requires an ABC transporter and a large secreted protein. *Molec. Microbiol.* 49(4), 905–918. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2958.2003.03615.x>
- Jahid I.K., Ha S., 2014. The paradox of mixed-species biofilms in the context of food safety. *Compreh. Rev. Food Sci. Food Safe.* 13(5), 990–1011. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12087>
- Jamal M., Ahmad W., Andleeb S., Jalil F., Imran M., Nawaz M.A., Hussain T., Ali M., Rafiq M., Kamil M.A., 2018. Bacterial biofilm and associated infections. *J. Chin. Med. Assoc.* 81(1), 7–11. <https://doi.org/10.1016/j.jcma.2017.07.012>
- Joseph B., Otta S.K., Karunasagar I., 2001. Biofilm formation by *Salmonella* spp. on food contact surfaces and their sensitivity to sanitizers. *Int. J. Food Microbiol.* 64(3), 367–372. [https://doi.org/10.1016/s0168-1605\(00\)00466-9](https://doi.org/10.1016/s0168-1605(00)00466-9)
- Kregiel D., 2013. Adhesion of *Aeromonas hydrophila* to glass surfaces modified with organosilanes. *Food Technol. Biotechnol.* 51(3), 345–351.
- Kubota H., Senda S., Nomura N., Tokuda H., Uchiyama H., 2008. Biofilm formation by lactic acid bacteria and resistance to environmental stress. *J. Biosci. Bioengineer.* 106(4), 381–386. <https://doi.org/10.1263/jbb.106.381>
- Kumar C., Anand S., 1998. Significance of microbial biofilms in food industry: a review. *Int. J. Food Microbiol.* 42(1–2), 9–27. [https://doi.org/10.1016/s0168-1605\(98\)00060-9](https://doi.org/10.1016/s0168-1605(98)00060-9)
- Kwon M., Hussain M.S., Oh D.H., 2017. Biofilm formation of *Bacillus cereus* under food-processing-related conditions. *Food Sci. Biotechnol.* 26, 1103–1111. <https://doi.org/10.1007/s10068-017-0129-8>
- Liao C.-H., 2007. Inhibition of foodborne pathogens by native microflora recovered from fresh peeled baby carrot and propagated in cultures. *J. Food Sci.* 72(4), 133–139. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2007.00333.x>
- Liu D., Huang Q., Gu W., Zeng X.-A., 2021. A review of bacterial biofilm control by physical strategies. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* <https://doi.org/10.1080/10408398.2020.1865872>
- Liu S., Gunawan C., Barraud N., Rice S.A., Harry E.J., Amal R., 2016. Understanding, monitoring, and controlling biofilm growth in drinking water distribution systems. *Environ. Sci. Technol.* 50(17), 8954–8976. <https://doi.org/10.1021/acs.est.6b00835>
- Marouani-Gadri N., Augier G., Carpentier B., 2009. Characterization of bacterial strains isolated from a beef-processing plant following cleaning and disinfection – Influence of isolated strains on biofilm formation by Sakai and EDL 933 *E. coli* O157:H7. *Int. J. Food Microbiol.* 133(1–2), 62–67. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2009.04.028>
- Meireles A., Borges A., Giaouris E., Simoes M., 2016. The current knowledge on the application of anti-biofilm enzymes in the food industry. *Food Res. Int.* 86, 140–146. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2016.06.006>
- Meliani A., Bensoltane A., 2015. Review of *Pseudomonas* attachment and biofilm formation in food industry. *Poultry, Fish. Wildlife Sci.* 3(1). <https://doi.org/10.4172/2375-446X.1000126>
- Miao J., Liang Y., Chen L., Wang W., Wang J., Li B., Xu Z., 2017. Formation and development of *Staphylococcus* biofilm: with focus on food safety. *J. Food Safe.* 37(4), e12358. <https://doi.org/10.1111/jfs.12358>
- Morikawa M., 2006. Beneficial biofilm formation by industrial bacteria *Bacillus subtilis* and related species. *J. Biosci. Bioengineer.* 101(1), 1–8. <https://doi.org/10.1263/jbb.101.1>
- Moretro T., Heir E., Nessle L., Vestby L.K., Langsrud S., 2012. Control of *Salmonella* in food related environments by chemical disinfection. *Food Res. Int.* 45(2), 532–544. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.02.002>
- Nahar S., Mizan F.R., Jie-won Ha A., Ha S., 2018. Advances and future prospects of enzyme-based biofilm prevention approaches in the food industry. *Compreh. Rev. Food Sci. Food Safe.* 17(6), 1484–1502. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12382>
- O'Toole G., Kaplan H.B., Kolter R., 2000. Biofilm formation as microbial development. *Ann. Rev. Microbiol.* 54(1), 49–79. <https://doi.org/10.1146/annurev.micro.54.1.49>



- Ölmez H., Temur S.D., 2010. Effects of different sanitizing treatments on biofilms and attachment of *Escherichia coli* and *Listeria monocytogenes* on green leaf lettuce. *LWT – Food Sci. Technol.* 43(6), 964–970. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2010.02.005>
- Satpathy S., Sen S.K., Pattanaik S., Raut S., 2016. Review on bacterial biofilm: an universal cause of contamination. *Biocatal. Agricult. Biotechnol.* <http://dx.doi.org/10.1016/j.bcab.2016.05.002>
- Timke M., 2004. Analysis of biofilm communities in breweries. PhD thesis. University of Osnabrück, Osnabrück, Germany, 1–154.
- WHO, 2017. The burden of foodborne diseases in the WHO European region. WHO Regional Office for Europe.
- Van Houdt R., Michiels C.W., 2010. Biofilm formation and the food industry, a focus on the bacterial outer surface. *J. Appl. Microbiol.* 109(4), 1117–1131. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2010.04756.x>
- Van Loosdrecht M.C., Lyklema J., Norde W., Zehnder A.J., 1990. Influence of interfaces on microbial activity. *Microbiol. Rev.* 54(1), 75–87.
- Vishwakarma V., 2019. Impact of environmental biofilms: industrial components and its remediation. *J. Basic Microbiol.* 60(3), 198–206. <https://doi.org/10.1002/jobm.201900569>

## Olej konopny – właściwości i możliwości wykorzystania w kosmetologii

Hemp oil – properties and possible use in cosmetology

Nazwa łacińska konopi siewnych *Cannabis sativa* L. pochodzi od słów *kane* (*kene*) – trzcina, oraz *bosem* (*busma*), co oznacza wonna, pachnąca, aromatyczna [Kaniewski i in. 2017]. Konopie siewne, z których pozyskiwany jest olej konopny (*Cannabis sativa seed oil*), pochodzą z terenów Azji Środkowej oraz Środkowego Wschodu, gdzie były uprawiane już w czasach starożytnych. Dane literaturowe wskazują, że są to jedne z najstarszych oraz najwszechstronniej wykorzystywanych roślin. Możliwość szerokiego zastosowania konopi warunkuje zawartość w ich składzie ponad 500 różnych związków, w tym około 60 kannabinoidów i ponad 140 terpenów [Siudem i in. 2015, Firenzuoli i in. 2016]. Zastosowanie oleju konopnego budzi kontrowersje dotyczące zawartości substancji narkotycznych bądź toksycznych w kannabinoidach. W przemyśle spożywczym, farmaceutycznym oraz kosmetycznym stężenie THC (tetrahydrokannabinol), jakie może znaleźć się w oleju, zostało prawnie określone, zgodnie z Ustawą o przeciwdziałaniu narkomanii. Według wspomnianej ustawy olej konopny nie może zawierać więcej niż 0,3% THC. Warunek ten jest spełniany, ponieważ olej konopny otrzymuje się metodą tłoczenia na zimno z konopi siewnych zawierających mniej niż 0,2% substancji o działaniu halucynogennym w przeliczeniu na suchą masę. Olej konopny ze względu na bogactwo i różnorodność substancji aktywnych w swoim składzie posiada wiele zastosowań zarówno w kosmetologii, jak i farmacji [Mańkowska i Grabowska 2009, Glinka 2008, Kaniewski i in. 2017].

Celem niniejszej pracy jest przedstawienie zawartości i właściwości najważniejszych substancji aktywnych oleju konopnego pozyskiwanego z nasion *C. sativum*, a także wykazanie możliwości jego wykorzystania w kosmetologii.

### Historia uprawy konopi

*Cannabis sativa* – bo taką nazwę otrzymały konopie w 1 r. n.e. – według wielu naukowców są uprawiane od 12 000 lat, co może wskazywać, że należą do jednych z najstarszych roślin uprawnych. W starożytności były wykorzystywane jako materiał do produkcji naczyń, papieru, tkanin czy żagli [Caputa i Nikiel-Loranc 2019]. W późniejszych wiekach w Chinach konopie uznawane były za „eliksir nieśmiertelności”. Twierdzono, że ich spożywanie zapewnia długie życie i doskonałą formę. Ponadto w tradycyjnej me-

---

<sup>1</sup> Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, Wydział Biologii Środowiskowej, katarzyna.rubinowska@up.lublin.pl

dycynie chińskiej stosowane były w leczeniu zatruc, bólów menstruacyjnych oraz oparzeń, a także chorób skóry. Receptury z ich dodatkiem stosowano w celu przeciwdziałania wypadaniu włosów [Simonsohn 2017]. Do Europy konopie dotarły w 1500 r. p.n.e. Antyczni lekarze stosowali olej konopny jako lekarstwo, lecząc nim mieszkańców starożytnego Rzymu i Grecji. Historia głosi, że Holendrzy zawdzięczają „złoty wiek” właśnie konopiom, z których pozyskiwali włókna konopne do wyrobu lin i żagli. Natomiast w Niemczech z wykorzystaniem wiatraków tłoczono olej z nasion konopi. To właśnie z Niemiec pochodzi zupa konopna oraz masło konopne, które można było spotkać również w krajach bałtyckich oraz w Rosji [Simonsohn 2017]. Dalsza ekspansja konopi była możliwa dzięki Hiszpanom i Anglikom, którzy przyczynili się do sprowadzenia tej rośliny do Ameryki. Tam stała się ona tak bardzo ceniona, że przez pewien czas była używana jako środek płatniczy. Po wojnie secesyjnej produkcja konopi znacznie zmalała, natomiast w pierwszej połowie XX w. zaczęła w USA obowiązywać ustawa, której celem było opodatkowanie upraw *C. sativa*. W praktyce oznaczało to zakaz jej uprawy, który w kolejnych latach zaczął obowiązywać niemal na całym świecie [Kaniewski i in. 2017]. Na początku lat 90. XX w. zakaz uprawy konopi w Europie został zniesiony dla odmian, które nie zawierają tetrahydrokannabinolu (THC). Kilka lat po tym niemieccy naukowcy odkryli idealną proporcję zawartych w konopiach kwasów tłuszczowych omega-3 i omega-6, a od 1997 r. uprawę odmian niezawierających THC lub o bardzo niskich stężeniach dozwolono w większości krajów Unii Europejskiej. Obecnie olej konopny pozyskiwany z *C. sativa* jest coraz częściej wykorzystywany w recepturach zarówno farmaceutycznych, jak i kosmetycznych, także przez duże koncerny z tych branż [Silska 2017, Simonsohn 2017].

### **Charakterystyka botaniczna konopi siewnych**

Rośliny *C. sativa* wykazują duże możliwości adaptacyjne do różnych warunków geograficznych, klimatycznych i glebowych, dlatego ich uprawa jest możliwa w niemal każdych warunkach klimatycznych [Mańkowska i Grabowska 2009]. *Cannabis sativa* jest gatunkiem jednorocznym, dwupiennym i wiatropylnym, o liściach dużych, dłoniastosciętych, kształtem przypominających liście kasztanowca. Powierzchnia liści jest delikatnie owłosiona, a włoski te wydzielają rodzaj żywicy zawierającej kannabinoidy. Korzenie osiągają długość do 2 m i mogą penetrować podłoże do głębokości 115 cm. Konopie rosną bardzo szybko, osiągając wysokość nawet 3,5 m w ciągu roku. Pierwotnie zawartość włókien w konopiach wynosiła mniej niż 10%, natomiast w obecnie uprawianych odmianach może ona osiągać nawet 40% [Simonsohn 2017]. Z botanicznego punktu widzenia nasiona konopi to małe orzechy, klasyfikowane jako nasiona oleiste. Otoczone są cienką, szklistą, brązowoszarą łupiną. Osiągają 3–4 mm grubości, a masa 1000 nasion osiąga wagę 15–20 g. Z 1 ha powierzchni uprawnej można zebrać około 1000 kg nasion konopi, z których można pozyskać ok. 350 l oleju konopnego [Simonsohn 2017]. Konopie zwykle są uprawiane bez stosowania środków ochrony roślin, ponieważ dzięki zawartości kannabinoidów wytworzyły naturalne mechanizmy obronne przed atakiem patogenów. Dlatego olej z konopi siewnych nie posiada żadnych pozostałości środków ochrony roślin i jest szczególnie ceniony jako składnik receptur kosmetyków naturalnych [Simonsohn 2017]. Olej konopny pozyskiwany metodą tłoczenia na zimno z nasion *C. sativa* ma płynną konsystencję, zieloną lub zielono-brunatną barwę, którą zawdzięcza dużej ilości

chlorofilu w komórkach. Charakteryzuje się delikatnym orzechowym zapachem i gorzkim orzechowym smakiem [Szukalski 1997, Czerpak i Jabłońska-Trypuć 2008, Glinka 2008].

### **Skład chemiczny oleju konopnego**

Głównymi składnikami nasion *C. sativum* są kwasy tłuszczowe, których zawartość mieści się w granicach 28–35%. Są to przede wszystkim niezbędne nienasycone kwasy tłuszczowe, których zawartość wynosi ok. 75%, z czego największe znaczenie ma kwas linolowy i  $\alpha$ -linolenowy. Pozostałymi komponentami nasion są: białka (25%), błonnik (10–15%) oraz węglowodany (28%). Ponadto w nasionach konopi występują: kwas fitynowy, cholina, trigonelina, lecytyna, chlorofil, witamina K, tokoferol, żelazo, wapń, cynk, fosfor oraz magnez [Kaniewski i in. 2017, Simonsohn 2017]. Podobnie jak w przypadku nasion głównym składnikiem oleju konopnego pozyskiwanego z nasion *C. sativa* są substancje oleiste, przede wszystkim niezbędne nienasycone kwasy tłuszczowe (NNKT) – które stanowią ok. 75% wszystkich kwasów tłuszczowych – z czego około 56% NNKT to kwas linolowy ( $\omega$ -6) i 19% to kwas  $\alpha$ -linolenowy ( $\omega$ -3). Stosunek kwasów  $\omega$ -6 do  $\omega$ -3 wynosi 3:1 i jest uważany za „złotą proporcję” dla organizmu. W składzie oleju znajdują się również inne kwasy tłuszczowe, w tym około 10% kwasu oleinowego i 4% kwasu  $\gamma$ -linolenowego (GLA). W skład oleju wchodzi również w przybliżeniu 10% nasyconych kwasów tłuszczowych, w tym kwasy palmitynowy i stearynowy [Czerpak i Jabłońska-Trypuć 2008, Simonsohn 2017]. Olej konopny w większości swojego składu zawiera kwasy tłuszczowe, jednak można w nim znaleźć wiele innych substancji aktywnych, w tym fitosterole (390–670 mg/100 g oleju), tokoferole (ok. 88 mg/100 g oleju), karotenoidy (3,1 mg/100 g oleju), polifenole (ok. 86 mg/100 g oleju), witaminy A, D, E, K oraz minerały (żelazo, magnez, potas, cynk, miedź, sód, wapń, fosfor) [Kurek-Górecka i in. 2018].

### **Wpływ substancji aktywnych zawartych w oleju konopnym na skórę**

Olej konopny jest doskonałym źródłem NNKT, które słyną ze swojego pozytywnego wpływu na stan skóry. Szczególnie stosowanie kwasów  $\omega$ -3 i  $\omega$ -6 wpływa na polepszenie jej stanu, zwłaszcza uelastycznienie i ochronę przed wysuszeniem (szczególnie cenne są kwasy  $\omega$ -3), odmłodzenie, a także na przenikalność substancji aktywnych przez warstwę rogową naskórka. Czynnikiem warunkującym wymienione właściwości jest zawartość naturalnych NNKT w błonach komórkowych naskórka. Dlatego połączenie ilościowe różnych NNKT w kosmetykach nie może być przypadkowe. Szczególnie istotne jest dobranie odpowiednich proporcji pomiędzy kwasem linolowym, którego zbyt duża ilość będzie działała prozapalnie, a kwasem  $\alpha$ -linolenowym, który ma właściwości przeciwzapalne [Kurek-Górecka i in. 2018].

Obecność kwasu GLA, który jest rzadko spotykanym kwasem w surowcach pochodzenia roślinnego, potwierdza tylko wyjątkowość oleju konopnego. Kwas  $\gamma$ -linolenowy jest istotny w utrzymaniu odpowiedniej kondycji skóry, nadaje jej i włosom blask, odmładza, regeneruje, ujędśnia oraz zapobiega nadmiernej przezskórnej utracie wody [Simonsohn 2017]. Jako składnik aktywny oleju konopnego GLA jest szczególnie ceniony

za możliwość penetracji warstwy rogowej naskórka, w której odgrywa rolę naprawczą i dodatkowo wzmacnia naturalną barierę ochronną skóry. Ponadto działa przeciwzapalnie, co ma istotne znaczenie w przeciwdziałaniu problemom skórny, powodowanym m.in. przez atopowe zapalenie skóry (AZS), łuszczycę, egzemę, łupież, a nawet oparzenia słoneczne czy ukąszenia owadów. Jego niedobór prowadzi do uszkodzenia warstwy lipidowej otaczającej keranocyty, co prowadzi do zaburzeń funkcji barierowej. Pod wpływem niewystarczającej ilości GLA skóra staje się szorstka, mało elastyczna oraz szybciej uwiadcniają się pierwsze oznaki starzenia.

Należy dodać, że wpływ na wzrost jego aktywności zwiększają zawarte w oleju konopnym witaminy A i E [Kurek-Górecka i in. 2018, Caputa i Nikiel-Loranc 2019]. Ponadto witamina A jest niezbędna do prawidłowego funkcjonowania skóry, włosów i paznokci [Dąbrowski i Skrajda 2016]. Jej długotrwały niedobór prowadzi do łuszczenia naskórka, pogorszenia kolorytu i struktury skóry oraz sprzyja powstawaniu zaskórników [Caputa i Nikiel-Loranc 2019].

Witamina A, poprzez pobudzenie fibroblastów do syntezy kolagenu, wpływa na odbudowę zniszczonych włókien kolagenu oraz elastyny, w czego wyniku zmarszczki stają się mniej widoczne, a cera jest bardziej miękka i jędrna. Jednocześnie jej obecność stymuluje wzrost nabłonka, hamując jego rogowacenie [Igielska-Kalwat i in. 2012]. Dodatkowo w strukturze chemicznej witaminy znajdują się wiązania podwójne, co nadaje jej właściwości antyoksydacyjne. Warto podkreślić, że retinol cechuje się dobrym przenikaniem w głąb skóry, dlatego jego stosowanie sprawdzi się u osób mających cerę suchą z przebarwieniami. Ponadto omawiana witamina wpływała na unormowanie wytwarzania łoju, dzięki czemu znalazła zastosowanie w leczeniu trądziku [Czerpak i Jabłońska-Trypuć 2008].

Witamina E stanowi grupę organicznych związków chemicznych, do której zaliczają się  $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ -,  $\delta$ -tokoferole. Jest bardzo silnym przeciwutleniaczem wchodzącym w skład błon komórkowych, chroni organizm przed wolnymi rodnikami, których nadmierna generacja sprzyja starzeniu się organizmu. Ponadto dobrze przenika do głębszych warstw naskórka, gdzie wbudowuje się w cement międzykomórkowy, wpływając pozytywnie na uelastycznienie, odżywienie i nawilżenie skóry [Czerpak i Jabłońska-Trypuć 2008]. Niedostateczna ilość tokoferoli prowadzi do powstawania plam starczych i przebarwień niepodlegających redukcji.

Połączone witaminy A i E w oleju sprawdzą się w leczeniu trądziku. Natomiast sama witamina E łagodzi stany zapalne, podrażnienia, poparzenia oraz zmniejsza objawy alergii skórnych, wzmacnia barierę lipidową naskórka, przez co zapobiega transepidermalnej utracie wody [Nowak i in. 2014, Caputa i Nikiel-Loranc 2019]. Ponadto witamina E nie jest wrażliwa na działanie wysokich temperatur, dlatego pod ich wpływem nie dochodzi do jej rozkładu, a to dodatkowo umożliwia jej wykorzystanie w ochronie przed promieniowaniem UV. Ponadto w oleju konopnym tokoferole chronią przed utlenieniem łatwo wchodzącego w reakcję kwasu  $\alpha$ -linolenowego, hamując rozwój nadtlenkowego utlenienia nienasyconych lipidów. Działanie to wpływa na stabilizację błon biologicznych, w których składzie znajdują się nienasycone kwasy tłuszczowe [Zielińska i Nowak 2014b].

Śladowe ilości witaminy D w oleju konopnym wspomagają łagodzenie stanów zapalnych skóry. Natomiast obecność witaminy K wzmacnia ściany naczyń krwionośnych, których osłabienie może towarzyszyć pogarszającej się kondycji skóry [Czerpak i Jabłońska-Trypuć 2008]. Barwniki roślinne zawarte w oleju konopnym, takie jak chlorofil czy karotenoidy, hamują działanie szkodliwego dla naskórka promieniowania słonecznego.

Przy czym chlorofil nie tylko nadaje zieloną barwę oleju, ale dzięki właściwościom antyseptycznym hamuje również rozwój bakterii w uszkodzonym naskórku [Czerpak i Jabłońska-Trypuć 2008]. Dodatkowo barwnik ten łagodzi stany zapalne, podrażnienia, a także stymuluje regenerację skóry łojotokowej, dlatego świetnie sprawdzi się w pielęgnacji skóry tłustej oraz skłonnej to trądziku [Dąbrowski i Skrajda 2016].

Fitosterole, kolejna substancja aktywna wchodząca w skład oleju konopnego, podobnie jak chlorofile wykazuje działanie przeciwzapalne. Ponadto związki te zapobiegają nadmiernej utracie wody poprzez umocnienie bariery lipidowej naskórka oraz wykazują działanie antyrodnikowe [Kurek-Górecka i in. 2018]. Natomiast minerały zawarte w oleju konopnym nadają cerze zdrowy wygląd, łagodzą oznaki starzenia oraz normują proliferację naskórka [Caputa i Nikiel-Loranc 2019].

### Wykorzystanie oleju konopnego w kosmetykach

Olej konopny ma niezwykle dużo cennych właściwości kosmetycznych wynikających z bogactwa swojego składu. Przeważającym komponentem są NNKT, które pełnią funkcję receptorów pobudzających syntezę lipidów barierowych skóry i białek – prekursorów naturalnego czynnika nawilżającego [Jurkowska 2007]. W pielęgnacji cery oleje z wysoką zawartością kwasów linolowego i  $\alpha$ -linolenowego są najmniej komedogenne i tym samym ograniczają powstawanie zaskórników. Dodatkowo oba te związki mają zdolność wbudowywania się w elementy lipidowe błon komórkowych oraz regenerują uszkodzoną barierę lipidową naskórka i ograniczają transepidermalną utratę wody. Z tego względu olej konopny jest szczególnie polecany w pielęgnacji cery tłustej, mieszanej i z tendencją do trądziku. Należy też dodać, że w pielęgnacji może być stosowany w formie oleju nakładanego bezpośrednio na skórę lub jako składnik receptur kosmetycznych [Silny 2012, Zielińska i Nowak 2014b]. Według badań kwasy tłuszczowe należące do grupy  $\omega$ -6 i  $\omega$ -3 mają korzystny wpływ na stan skóry, wykazują działanie odmładzające, dlatego mogą być wykorzystywane w zabiegach z zakresu medycyny estetycznej i kosmologii [Wydry 2012]. Głównymi białkami nasion *C. sativa* są albumina oraz edestina – bogate źródła aminokwasów egzogennych. Białka nasion konopi i otrzymane z nich bioaktywne peptydy wpływają na zmniejszenie stresu oksydacyjnego, dlatego mogą być wykorzystywane jako składnik receptur kosmetycznych zalecanych do pielęgnacji skóry dojrzałej i starzejącej się [Dąbrowski i Skrajda 2016]. Ze względu na obecność w składzie oleju konopnego kwasu fitynowego i tokoferoli jest on cenionym składnikiem kosmetyków ochronnych, których zadaniem jest ochrona i przeciwdziałanie szkodliwym efektem promieniowania UV na skórę [Wydry 2012]. Olej konopny może być również stosowany jako składnik kosmetyków do pielęgnacji włosów i owłosionej skóry głowy [Zielińska i Nowak 2014a]. Podczas przechowywania tego oleju należy pamiętać, że jest on niezwykle wrażliwy na promieniowanie UV, dlatego należy przetrzymywać go w ciemnych butelkach, z dala od dostępu światła (najlepiej w lodówce). Pod wpływem światła zielona barwa znika, staje się on bezbarwny i częściowo traci swoje właściwości. Olej konopny ma w dodatku lekką formułę, która szybko się wchłania, nie pozostawiając tłustego filmu na skórze, dlatego jest zalecany do każdego rodzaju skóry [Glinka 2008].

Ze względu na swoje szerokie spektrum działania olej konopny jest coraz częściej stosowanym składnikiem w recepturach preparatów kosmetycznych. Obecne na rynku kosmetyki z jego dodatkiem charakteryzuje różna jego zawartość w ich składzie.

W kremach pielęgnacyjnych ta wartość mieści się w granicach 5–25%, w balsamach do ciała – do 30%, w pomadkach do ust – od 3 do 5%, w mydłach – od 3 do 12,5%, w produktach do kąpieli i szamponach i balsamach do włosów – od 0,1 do 1%, a w olejkach do masażu – od 3 do 25% [Glinka 2008].

## Podsumowanie

Olej konopny jest doskonałym olejem kosmetycznym, którego popularność stale wzrasta. Co ważne, może być aplikowany bezpośrednio na skórę, a także stosowany jest jako cenne źródło substancji aktywnych w recepturach kosmetycznych. Na rynku kosmetycznym znajdziemy coraz więcej produktów, które zawierają go w swoim składzie. Ceniony jest zwłaszcza ze względu na bogaty i różnorodny skład kwasów tłuszczowych, z których za najcenniejsze uważa się NNKT – doskonale pielęgnują one skórę, zapobiegając jednocześnie utracie wilgoci, oraz regenerują lipidy skórne. Co za tym idzie, idealnie radzą sobie z problemami skóry zarówno wrażliwej, suchej, jak i dojrzałej. Ponadto jest ceniony w pielęgnacji skóry tłustej, mieszanej i trądzikowej ze względu na obecność w składzie kwasów linolowego i  $\alpha$ -linolenowego w proporcjach, które wskazują na ich idealne dobranie. Olej konopny to również bogate źródło związków o charakterze antyoksydantów, przez co stanowi doskonały składnik w kompozycji kosmetyków chroniących przed szkodliwym działaniem promieniowania UV oraz przeznaczonych do starzejącej się cery. Możliwości zastosowania oleju konopnego w kosmetologii jest wiele, jego potencjał pomimo rosnącego zainteresowania pozostaje nadal niewykorzystany, dlatego wskazane jest kontynuowanie badań, które rozszerzą spektrum jego wykorzystania.

## Bibliografia

- Caputa J., Nikiel-Loranc A., 2019. Zastosowanie oleju konopnego w kosmetologii. *Kosmetol. Estet.* 8, 461–463.
- Czerpak R., Jabłońska-Trypuć A., 2008. Roślinne surowce kosmetyczne. Wyd. MedPharm, Wrocław.
- Dąbrowski G., Skrajda M., 2016. Frakcja lipidowa i białkowa nasion konopi siewnych (*C. Sativa* L.) oraz jej korzystny wpływ na zdrowie człowieka. *J. Educ. Health Sport* 6(9), 357–366. <http://dx.doi.org/10.5281/zenodo.62002>
- Firenzuoli F., Epifani F., Loiacono I., 2016. Konopie dla wszystkich. *Lecnicze zastosowanie marihuany*. Wyd. I. Esteri, Wrocław.
- Glinka R., 2008. *Receptura kosmetyczna z elementami kosmetologii*. Oficyna Wyd. MA, Łódź.
- Igielska-Kalwat J., Wawrzyńczak A., Nowak I., 2012. Karotenoidy i ich zastosowanie w przemyśle kosmetycznym na przykładzie  $\beta$ -karotenu. *Chemik* 66(2), 140–144.
- Jurkowska S., 2007. *Surowce kosmetyczne*. Ośrodek Informatyczno-Badawczy „Ekoprzem” Sp. z o.o., Dąbrowa Górnicza.
- Kaniewski R., Pniewska I., Świątkowski M., 2017. Możliwości wykorzystania olejków eterycznych, ze szczególnym uwzględnieniem olejku konopnego, jako substancji aktywnych i środków konserwujących kosmetyki. *Post. Fitoter.* 17(2), 125–129.
- Kurek-Górecka A., Balwierz R., Mizera P., Nowak M., Żurawska-Plaksej E., 2018. Znaczenie terapeutyczne i kosmetyczne oleju konopnego. *Farm. Pol.* 74(12), 704–707. <http://dx.doi.org/10.32383/farmpol/118618>
- Mańkowska G., Grabowska L., 2009. Genetic resources of *Cannabis sativa* L. at the Institute of Natural Fibres and Medicinal Plants in Poznań. *Herba Polon.* 55(3), 179–184.

- Nowak A., Zielonka J., Turek M., Klimowicz A., 2014. Wpływ przeciwutleniaczy zawartych w owocach na proces fotostarzenia się skóry. *Post. Fitoter.* 2, 94–99.
- Silny W., 2012. Atopowe zapalenie skóry. Termedia, Poznań.
- Silska G., 2017. Konopie (*Cannabis L.*) jako źródło kanabinoidów stosowanych w terapii. *Post. Fitoter.* 4, 286–289. <https://doi.org/10.25121/PF.2017.18.4.286>
- Simonsohn B., 2017. Konopie – cud natury. Zdrowotne zastosowanie nasion i oleju konopnego. Wyd. Vital, Białystok.
- Siudem P., Wawer I., Paradowska K., 2015. Konopie i kannabinoidy. *Farm. Współ.* 8, 1–8.
- Szukalski B., 1997. Kannabis – biochemia, farmakologia i toksykologia. *Alkoh. Narkom.* 10(2), 123–145.
- Wydro D., 2012. Kwasy omega 3 i 6 w medycynie i kosmetologii. Wpływ doustnej suplementacji kwasami omega-3 i 6 na kondycję skóry – badanie pilotażowe. *Acad. Aesthet. Anti-Aging Med.* 4, 46–54.
- Zielińska A., Nowak I., 2014a. Tokoferole i tokotrienole jako witamina E. *Chemik* 68(7), 585–591.
- Zielińska A., Nowak I., 2014b. Kwasy tłuszczowe w olejach roślinnych i ich znaczenie w kosmetyce. *Chemik* 68(2), 103–110.



## Ślimak w kuchni i w salonie urody

A snail in the kitchen and beauty salon

Zachodzące na świecie przeobrażenia niemal we wszystkich sferach życia ludzi, związane m.in. innymi z globalizacją, znajdują odbicie w zmieniającym się sposobie życia, czego wyrazem są np. zmiany w zachowaniach i zwyczajach konsumentów żywności, poszukiwanie na rynku tzw. produktów niszowych oraz rosnące zainteresowanie produktami naturalnymi. W trend ten doskonale wpisują się ślimaki, których konsumpcja w ostatnich latach znacząco wzrosła. Jednocześnie są one producentami cennego śluzu, zawierającego szereg związków bioaktywnych wykorzystywanych w przemyśle kosmetycznym.

Celem tej pracy jest przegląd informacji zawartych w polskich i zagranicznych czasopismach naukowych oraz artykułach publikowanych w prasie popularnonaukowej i źródłach internetowych na temat wartości kulinarnej ślimaków oraz pielęgnacyjnych i kosmetycznych właściwości ekstraktu ich śluzu.

### Występowanie i hodowla ślimaków

Ślimaki (brzuchonogi) to najbardziej liczna i zróżnicowana gromada mięczaków. Zając [2016] podaje, że ogólna liczba gatunków ślimaków wynosi blisko 105 tys., z czego środowisko lądowe zasiedla zaledwie nieco ponad 30 tys. gatunków. Na terenie Polski naliczono ponad 175 gatunków ślimaków lądowych i blisko 60 gatunków ślimaków wodnych.

Helikultura obejmuje hodowlę ślimaków lądowych specjalnie nadających się do spożycia przez ludzi. W Europie jest stosunkowo nową dziedziną produkcji zwierzęcej. Jej początki sięgają lat 80. XX w. Wtedy to w miejscowości Le Magneraud w Bretanii powstała pierwsza ferma doświadczalna [Ligaszewski i Pol 2019]. W Polsce pierwsze fermy ślimaków powstały na Podkarpaciu oraz na Dolnym Śląsku, a w Instytucie Zootechniki w Balicach utworzono Doświadczalną Fermę Produkcyjną ślimaka szarego, która na początku istnienia zajmowała się wdrażaniem francuskich technologii w polskich warunkach oraz szkoleniem osób zainteresowanych hodowlą i zaopatrywaniem ich w reproduktory ślimaków [Peters 2019].

Popularnym i sprawdzonym w hodowli gatunkiem jest ślimak szary, którego dwa podgatunki: ślimak szary mały europejski (*Helix aspersa Müller*) oraz ślimak szary duży afrykański (*Helix aspersa maxima*) są wykorzystywane również w kosmetyce. Do celów kulinarnych wykorzystuje się również ślimaka winniczka *Helix pomatia* [Szkucik i in.

---

<sup>1</sup> Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, Wydział Biologii Środowiskowej, juliakusy@wp.pl

<sup>2</sup> Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, Instytut Hodowli Zwierząt i Ochrony Bioróżnorodności

2011]. Na obszarze Afryki do celów konsumpcyjnych wykorzystywane są także ślimaki z gatunku *Achatinidae* [Paszkievicz i in. 2014].

Ślimak szary *Helix aspersa* to lądowy ślimak płucodyszny z rodziny *Helicidae*, usystematyzowany i opisany przez Ottona Friedricha Müllera w 1774 r. [Dekle i Fasulo 2021]. Obecnie jest zaklasyfikowany do nowego w obrębie rodziny *Helicidae* rodzaju *Cornu*. W powszechnym użyciu pozostają wcześniejsze nazwy łacińskie ślimaka dużego szarego – *Helix aspersum maxima* lub *Helix aspersa aspersa*, oraz ślimaka małego szarego – *Helix aspersa Müller* [Szkucik i in. 2011]. Ślimak winniczek *Helix pomatia*, podobnie jak ślimak szary, należy do ślimaków płucodysznych rodziny *Helicidae*. Sklasyfikowany został przez Linneusza w 1758 r.

Pozyskiwanie ślimaków dla przemysłu spożywczego odbywa się głównie w warunkach fermowych, chociaż w przypadku winniczka wciąż znaczący udział ma zbiór naturalny. W Polsce jest on dopuszczalny wyłącznie w okresie od 20 kwietnia do 31 maja, przy czym średnica muszli zebranych ślimaków powinna być większa niż 30 mm [Paszkievicz i in. 2014, Kwiatkowska 2020].

Światowy rynek ślimaków jadalnych jest wart około 1,2 mld dol. [Del Valle 2018]. Ślimaki z polskich hodowli w znacznej części są eksportowane, m.in. do Włoch, Francji, Hiszpanii i Belgii. Dane o wielkości produkcji w Polsce nie są dokładne, ponieważ oprócz dużych potentatów hodowlanych funkcjonują również mali producenci, którzy samodzielnie dostarczają ślimaki do Francji czy Włoch [Petera 2019]. W ostatnich latach wielkość polskiego eksportu ślimaków znacząco spadła. Dane Głównego Urzędu Statystycznego (GUS) wskazują, że w 2018 r. z Polski wysłano za granicę zaledwie 164 t, czyli trzykrotnie mniej w porównaniu z rokiem 2014 [Ptak-Iglewska 2019].

### Ślimaki jako składnik diety

Wykopaliska archeologiczne dokonane na terenie obecnej Algierii i Tunezji wskazują, że ślimaki lądowe od tysięcy lat są pożywieniem dla ludzi. Również w regionie Morza Śródziemnego odnaleziono dowody kulinarnego wykorzystania ślimaków już 6000–12 000 lat temu [Polish Snail Holding 2016]. W starożytnym Rzymie ślimaki uważano za afrodyzjak, stosowano je także jako lekarstwo. Obecnie przekąski ze ślimaków są szczególnie znane i popularne we Francji oraz Belgii, Holandii, Hiszpanii, Portugalii i Niemczech [Szkucik i in. 2011]. W Polsce ślimaki były popularną potrawą w XVII w. [Kwiatkowska 2020].

Częścią jadalną ślimaka jest stopa razem z kołnierzem i fragmentem płaszcza. Części te stanowią tzw. tuskę ślimaczą. Jej masa oraz wartość odżywcza jest zróżnicowana w zależności od gatunku (tab. 1), systemu utrzymania i żywienia ślimaków. Pozostały fragment stopy – część trawienna – stanowi odpad produkcyjny [Paszkievicz i in. 2014]. Produktem spożywczym jest także tzw. biały kawior produkowany ze świeżych lub przetworzonych jaj ślimaka szarego [Szkucik i in. 2011, Kwiatkowska 2020]. Charakteryzują się one wysoką zawartością białka (34,6–42,2%) i mają niską zawartość lipidów. Są także bogate w wapń i mają działanie przeciwutleniające [Górka i in. 2017].

Tabela 1. Wybrane wskaźniki wydajności mięsnej ślimaków oraz wartość odżywcza części jadalnej [Ligaszewski i Pol 2016]

Wyszczególnienie	<i>Helix aspersa aspersa</i>	<i>Helix aspersa maxima</i>
Masa części jadalnej (g)	5,78–6,85	9,66–10,65
Udział części jadalnej (%)	65,12–69,36	63,64–65,77
Zawartość białka ogólnego w części jadalnej (%)	10,8–13,0	10,7–12,6
Zawartość tłuszczu surowego w części jadalnej (%)	0,24–0,47	0,24–0,80
Udział PUFA w profilu WKT części jadalnej (%)	59,0–63,2	58,5–61,5
Udział MUFA w profilu WKT części jadalnej (%)	15,0–22,5	17,2–22,0
Stosunek PUFA-6/3 w profilu WKT części jadalnej	8,0–11,2	8,5–11,3
Zawartość cholesterolu w części jadalnej (mg/g)	1,31–1,58	1,31–1,35

PUFA (*polyunsaturated fatty acids*) – wielonienasycone kwasy tłuszczowe, MUFA (*monounsaturated fatty acids*) – jednonienasycone kwasy tłuszczowe, WKT – wyższe kwasy tłuszczowe

Mięso ślimaków jest ważnym źródłem białka w diecie ludzi w kilku regionach świata [Jess i Marks 1995]. Jest ono niskokaloryczne – 100 g dostarcza 217 g energii. Wynika to z małej ilości tłuszczu w tuszce (0,48–1,23%). W ogólnej zawartości kwasów tłuszczowych aż 70–81% stanowią kwasy nienasycone. Zawartość białka wynosi 12,8–18 g w zależności od gatunku ślimaka, warunków hodowli i rodzaju skarmianej paszy. Ma ono wysoką wartość biologiczną, co jest związane z zawartością aminokwasów egzogennych (35,5–45,26% zawartości wszystkich aminokwasów). W mięsie ślimaczym znajdują się również witaminy E i C oraz minerały: Mg, K, Fe, Ca, i inne liczne składniki [Paszkievicz i in. 2014].

### Ślimaki w przemyśle kosmetycznym

Żywnościowe trendy wegetariańskie, wegańskie i „cruelty free” na dobre przeniosły się na różne dziedziny życia człowieka, stając się stylem i filozofią życia [Tunçay i Bulut 2019]. Również marki kosmetyczne obserwują przenikanie tych zachowań do rytuałów pielęgnacyjnych [Pawlik i in. 2017]. Mimo to na rynku kosmetycznym można znaleźć mnóstwo kosmetyków zawierających substancje pozyskiwane od zwierząt. Na etykietach preparatów kosmetycznych można odszukać różne substancje pochodzenia zwierzęcego, takie jak: miód, wosk pszczoły, lanolina, mleko krowie, mleko owcze, jaja, odchody słowika, jad węża, olej emu i wiele innych.

Kosmetyki zawierające wydzielinę ze ślimaka, figurującą w rejestrach INCI jako Snail Secretion Filtrate, trafiły na rynek pod koniec XX w. Dziś są chętnie stosowane na całym świecie [Tsoutsos i in. 2009, Trapella i in. 2018]. Dla kosmetycznego wykorzystania śluzu ślimaka przełomowy był rok 1980. Członków rodziny Bascunan, którzy prowadzili hodowlę ślimaków gatunku *Helix aspersa Müller*, zaintrygował fakt, że rany na ich rękach goiły się bardzo szybko, nie pozostawiając blizn ani podrażnień czy infekcji. Ponadto skóra ich rąk była miękka i gładka, chociaż ciężko pracowali fizycznie [Krzyżanowska 2019]. Najstarszy syn rodziny – lekarz Fernando Bascunan – pod wpływem tych obserwacji rozpoczął badania nad właściwościami śluzu ślimaka. W 1993 r. stworzono pierwszy krem na bazie śluzu ślimaka *Helix aspersa Müller*, a dwa lata później rynek kosmetyczny został wzbogacony o krem chilijskiej marki Elicina do pielęgnacji skóry. Pojawiający się trend został wykorzystany przez Koreę Południową, która stała się pionierem w produkcji produktów ze śluzem ślimaka i jest nim do dziś [Del Valle 2018].

Wykorzystanie cennych właściwości śluzu ślimaka sięga czasów starożytnej Grecji oraz Rzymu. Używano go do łagodzenia bólu, leczenia oparzeń i innych urazów [El Mubarak i in. 2013]. Za lekarstwo na wiele dolegliwości uważano również jedzenie ślimaków, co miało pomagać przy omdleniach, bólach brzucha, odkrztuszaniu krwi i przynosić ogólną ulgę w bólu. Hipokrates zalecał nakładanie zmiażdżonych ślimaków na skórę w celu złagodzenia stanów zapalnych, a Pliniusz uważał, że w takiej formie łagodzą ból towarzyszący oparzeniom, ropniom i innym ranom. Zalecał również ślimaki na krwawienia z nosa i bóle brzucha oraz wiele innych stanów patologicznych [Bonnemain 2005]. Śluz ślimaka wykorzystywano także przy leczeniu brodawek i trądziku, a połykany w całości ślimak *Arion hortensis* miał wspomagać leczenie zapalenia i wrzodów żołądka [Thomas 2013]. W XVIII w. jedzenie ślimaków było zalecane jako lekarstwo na węglika, a w XIX w. jako lek na gruźlicę. W 1953 r. we Francji opublikowano przegląd terapeutycznych właściwości ślimaków, w których podkreślono skuteczność kilku preparatów na bazie *Helix pomatia* na krztusiec i przewlekłe zapalenie oskrzeli [Bonnemain 2005].

Śluz ślimaka to ciągliwa i lepka substancja pokrywająca zewnętrzną powierzchnię jego ciała i jest wydzielana przez gruczoły znajdujące się w stopie ślimaka. Produkowany śluz jest dwójakiego rodzaju – limozyna jest pozbawiona działania leczniczego, a jej rola to zmniejszanie tarcia podczas poruszania się ślimaka, natomiast kryptozyna ma zabezpieczyć i zregenerować delikatne tkanki, które podczas poruszania się ulegają uszkodzeniu w kontakcie z twardą powierzchnią. Poza tym służy do regulacji termicznej i nawodnienia [Song i in. 2021]. I to właśnie właściwości kryptozyny wykorzystuje się w kosmetykach, ponieważ regeneruje ona tkanki ślimaka, ale jak udowodniono – również ludzką skórę [Wójcicki 2017].

Substancje czynne zawarte w śluzie sprawiają, że jest to wyjątkowy produkt naturalny, niemożliwy do odtworzenia w laboratorium przy użyciu syntetycznych związków chemicznych. I chociaż obecnie śluz ślimaka wchodzi w skład różnorodnych produktów kosmetycznych, to nadal brakuje kompleksowej charakterystyki jego składu chemicznego i efektów biologicznych [Alogna 2017, Trapella i in. 2018, Krzyżanowska 2019].

Analiza wyników prac poświęconych właściwościom śluzu różnych gatunków ślimaków wskazuje na jego wszechstronne działanie. Kubota i in. [1985] stwierdzili, że śluz ślimaka *Achatina fulica* wykazuje wysoce dodatnią aktywność przeciwbakteryjną. Również badania nad śluzem *Helix aspersa Müller* wykazały, że ma on działanie przeciwbakteryjne [Bortolotti i in. 2016], a ponadto przyspiesza gojenie ran [López Angulo i do Amaral Sobral 2016, Trapella i in. 2018]. Tsoutsos i in. [2009] udowodnili, że ekstrakt *Helix aspersa* nie

tylko przyspiesza gojenie ran oparzeniowych, ale też uśmierza ból. Testowano również skuteczność śluzu ślimaka *Arion ater* w leczeniu zmian brodawkowatych [Thomas 2013]. Trapella i in. [2018] wykazali, że surowy oczyszczony ekstrakt śluzu *Helix aspersa Müller* (HelixComplex) testowany *in vitro* na hodowlach fibroblastów nie wykazuje cytotoksyczności, chroni komórki przed apoptozą i jest w stanie znacząco indukować proliferację i migrację komórek. Również Gentili i in. [2020] potwierdzili właściwości regeneracyjne HelixComplex, a także wykazali, że ekstrakt ze śluzu ślimaka był w stanie chronić przed ekspozycją na O<sub>3</sub>, zapobiegając uszkodzeniom oksydacyjnym i wynikającej z nich odpowiedzi prozapalnej. Na podstawie tych badań można zasugerować HelixComplex jako potencjalnie nową technologię ochrony przed uszkodzeniami skóry, wywołanymi zanieczyszczeniami. Analiza biochemiczna śluzu *H. aspersa* wykazała obecność mukopolisacharydu, który umożliwia znaczne wiązanie wodorowe z sąsiednimi cząsteczkami wody, co skutecznie prowadzi do uwodnienia otaczającej tkanki [Trapella i in. 2018]. Ponadto stymuluje endogenną syntezę hialuronianu, co skutkuje wzrostem zdolności wiązania wody i sprężystości skóry [López Angulo i do Amaral Sobral 2016, Trapella i in. 2018]. Badania Laneri i in. [2019] wykazały, że zwiększenie stężenia śluzu ślimaka w kremie powodowało wyraźną poprawę nawilżenia skóry. Według Gugliandolo i in. [2021] śluz ślimaka działa ochronnie nie tylko na skórę, ale wpływa pozytywnie na również błony śluzowe. Badania tych autorów wykazały znaczący ochronny wpływ filtratu śluzu ślimaka na redukcję zmian makroskopowych i histologicznych przy owrzodzeniu żołądka.

Tabela 2. Właściwości i skład filtratu śluzu *Helix aspersa Müller* [Gugliandolo i in. 2021]

Wygląd	Przezroczysty płyn	Kwas hialuronowy	< 0,1 g/100 g
Kolor	Lekko bursztynowy	Elastyna	0,092 g/100 g
pH	4,80	Kolagen	0,32 g/100 g
Współczynnik refrakcji	1,3405	Trans-retinol	<10 µg/100 g
Gęstość	1,02 g/ml	13-cis-retinol	<10 µg/100 g
Sucha masa	3 g/100 g	Składniki mineralne	
Zawartość białka	1,54 g/100 g	Cr	0,007 mg/kg
Witamina E	< 0,10 mg/kg	Cu	5,04 mg/kg
Witamina C	0,13 mg/kg	Hg	0,22 mg/kg
Witamina B12	< 10 µg/100 g	Cd	0,012 mg/kg
Witamina B3	<10 µg/100 g	Co	<0,001 mg/kg
Allantoina	0,081 g/100 g	Ni	0,820 mg/kg
Kwas glikolowy	0,99 g/100 g		

Śluz ślimaka to mieszanina wielu substancji czynnych (tab. 2), m.in. proteoglikanów, glikozaminoglikanów, enzymów glikoproteinowych, kwasu hialuronowego, peptydów miedzi, peptydów przeciwdrobnoustrojowych i jonów metali [Smith i in. 2009]. Liczne badania naukowe wskazują na wysoki stopień zmienności składu śluzu ślimaka, który zależy m.in. od gatunku i miejsca, w którym żyją, rosną i rozmnażają się ślimaki, a także od metody jego pozyskiwania i oczyszczania [Alogna 2017, Trapella i in. 2018, Krzyżanowska 2019].

Poszczególnym substancjom czynnym zawartym w kosmetykach na bazie śluzu ślimaka przypisuje się wymienione niżej właściwości [Wójcicki 2017].

- Alantoina nawilża, łagodzi podrażnienia, wspomaga procesy regeneracji naskórka, leczy zmiany trądzikowe, usuwa blizny, rozstępy i spękania na skórze.
- Kwas glikolowy złuszcza stary naskórek i wspomaga jego odnowę, wygładza, rozjaśnia przebarwienia, ma właściwości oczyszczające i zdolność do regulacji wydzielania sebum czy zwężania porów, co wykorzystuje się w łagodzeniu zmian trądzikowych.
- Enzymy proteolityczne wzmacniają działanie kwasu glikolowego, rozpuszczają martwe komórki naskórka, ułatwiają penetrację składników odżywczych.
- Kolagen i elastyna dodają skórze witalności, wzmacniają, wygładzają zmarszczki, dzięki ich obecności skóra staje się zwarta, elastyczna i sprężysta.
- Mukopolisacharydy wspomagają produkcję kolagenu w skórze, regulują procesy nawilżania, wzmacniają, łagodzą podrażnienia i uczulenia skórne, wpływają na prawidłowe krążenie krwi oraz limfy.
- Witaminy A, C, E działają odżywczo i regeneracyjnie, chronią przed szkodliwym działaniem zanieczyszczonego powietrza, wzmacniają naskórek.
- Mukoproteiny odżywiają, nawilżają, ujędrniają skórę.
- Naturalne antybiotyki – działają bakterio- i grzybobójczo, niwelując stany zapalne skóry.

Należy podkreślić, że efekt działania produktu końcowego, jakim jest konkretny kosmetyk, będzie uzależniony od stężenia oczyszczonego śluzu w produkcie finalnym, a jest ono bardzo zmienne i wynosi od 10 do 90%. Zatem substancje czynne odpowiedzialne za korzystne działanie śluzu ślimaka będą obecne w kosmetyku w różnych proporcjach i w odmiennym stężeniu w porównaniu z substancją wyjściową [Alogna 2017].

## Podsumowanie

Do zwiększenia w ostatnich latach konsumpcji ślimaków na świecie przyczyniło się poszukiwanie alternatywnych źródeł białka zwierzęcego, chęć zaspokojenia wyszukanych upodobań smakowych konsumentów oraz wzrost ich zainteresowania alternatywnymi gatunkami zwierząt będącymi źródłem żywności. Dania sporządzone na bazie ślimaków nie są już postrzegane jako ekskluzywna przekąska, ale jako żywność o wysokich walorach odżywczych i wartości prozdrowotnej. Jednocześnie współczesny konsument wykazuje stale rosnące zainteresowanie produktami naturalnymi. Wielu producentów wykorzystuje to zjawisko, wprowadzając na rynek produkty zawierające biologicznie aktywne składniki ze źródeł naturalnych. W trend ten doskonale wpisuje się szeroka gama kosmetyków zawierających śluz ślimaka, który ma zbawienny wpływ na ludzką skórę.

## Bibliografia

- Alogna A., 2017. New frontiers in snail mucus studies for cosmetic and pharmaceutical preparations. *Cosmeticoscope* 23(4), 1–6.
- Bonnemain B., 2005. Helix and drugs: snails for Western health care from antiquity to the present. *Evid. Based Complement Alternat. Med.* 2(1), 25–28.
- Bortolotti D., Trapella C., Bernardi T., Rizzo R., 2016. Letter to the Editor: Antimicrobial properties of mucus from the brown garden snail *Helix aspersa*. *Br. J. Biomed. Sci.* 73, 49–50.
- Dekle G.W., Fasulo T.R., 2021. Features Creatures. [http://entnemdept.ufl.edu/creatures/misc/gastro/brown\\_garden\\_snail.htm](http://entnemdept.ufl.edu/creatures/misc/gastro/brown_garden_snail.htm) [dostęp: 19.03.2021].
- Del Valle G., 2018. The ethics of snail mucin. <https://theoutline.com/post/4503/snail-mucin-farms-extraction-skin-care-heliciculture-ethics> [dostęp: 18.03.2021].
- El Mubarak M.A., Lamari F.N., Kontoyannis C., 2013. Simultaneous determination of allantoin and glycolic acid in snail mucus and cosmetic creams with high performance liquid chromatography and ultraviolet detection. *J. Chrom. A* 1222, 49–53. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2013.10.086>
- Gentili V., Bortolotti D., Benedusi M., Alogna A., Fantinati A., Guiotto A., Turrin G., Cervellati C., Trapella C., Rizzo R., Valacchi G., 2020. HelixComplex snail mucus as a potential technology against O<sub>3</sub> induced skin damage. *PLoS One* 15(2), e0229613. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0229613>
- Górka A., Oklejewicz B., Duda M., 2017. Nutrient content and antioxidant properties of eggs of the land snail *Helix aspersa maxima*. *J. Nutr. Food Sci.* 7, 594. <https://doi.org/10.4172/2155-9600.1000594>
- Gugliandolo E., Cordaro M., Fusco R., Peritore A.F., Siracusa R., Genovese T., D'Amico R., Impellizzeri D., Di Paola R., Cuzzocrea S., Crupi R., 2021. Protective effect of snail secretion filtrate against ethanol-induced gastric ulcer in mice. *Sci. Rep.* 11, 3638. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-83170-8>
- Jess S., Marks R.J., 1995. Population density effects on growth in culture of the edible snail *Helix aspersa* var. *maxima*. *J. Molluscan Stud.* 61(3), 313–323.
- Krzyżanowska M., 2019. Śliski temat, czyli śluz ślimaka pod lupą. <https://age-less.pl/sliski-temat-czyli-sluz-slimaka-pod-lupa/> [dostęp: 16.03.2021].
- Kubota Y., Watanabe Y., Otsuka H., Tamiya T., Tsuchiya T., Matsumoto J.J., 1985. Purification and characterization of an antibacterial factor from snail mucus. *Comp. Biochem. Physiol. C Comp. Pharmacol.* 82(2), 345–348. [https://doi.org/10.1016/0742-8413\(85\)90173-2](https://doi.org/10.1016/0742-8413(85)90173-2)
- Kwiatkowska K., 2020. Ślimaki jadalne – właściwości, wartości odżywcze i wykorzystanie ślimaków jadalnych. <https://www.ekologia.pl/styl-zycia/zdrowa-zywnosc/slimaki-jadalne-wlasciwosci-wartosci-odzywcze-i-wykorzystanie-slimakow-jadalnych,26656.html> [dostęp: 16.03.2021].
- Laneri S., Di Lorenzo R., Sacchi A., Dini I., 2019. Dosage of bioactive molecules in the nutraceutical *Helix aspersa Muller* mucus and formulation of new cosmetic cream with moisturizing effect. *Nat. Prod. Commun.* 14(8), 1–7. <https://doi.org/10.1177/1934578X19868606>
- Ligaszewski M., 2009. Podstawy biologii i technologii hodowlanej ślimaków jadalnych w warunkach krajowych. Wyd. IZ PIB, Kraków.
- Ligaszewski M., Pol P., 2016. Ocena wpływu różnych systemów chowu ślimaka szarego (*Helix aspersa*) na wartość odżywczą i wydajność jego mięsa. *Wiad. Zootech.* 54(3), 18–34.
- Ligaszewski M., Pol P., 2019. Wybrane zagadnienia z dziedziny helikultury. Monografia. Wyd. IZ PIB, Kraków.
- López Angulo D.E., do Amaral Sobral P.J., 2016. Characterization of gelatin/chitosan scaffolds blended with aloe vera and snail mucus for biomedical purpose. *Int. J. Biol. Macromol.* 92, 645–653.
- Paszkiwicz W., Ziomek M., Szkucik K., Maćkowiak-Dryka M., 2014. Pozyskiwanie i jakość zdrowotna mięsa ślimaków. *Med. Weter.* 70(11), 673–679.

- Pawlik A., Niewęglowska-Wilk M., Kalicińska J., Śpiewak R., 2017. Kosmetyki „naturalne”, „biologiczne” i „ekologiczne”. Gwarancja bezpieczeństwa czy marketing? *Kosmetol. Estet.* 6(2), 125–130.
- Petera W., 2019. Ślimaki – sposób na dodatkowy biznes na wsi. <https://www.wrp.pl/slimaki-sposob-na-dodatkowy-biznes-na-wsi/> [dostęp: 14.03.2021].
- Polish Snail Holding, 2016. Kto i dlaczego jadł ślimaki? <https://polishsnailholding.com/kuchnia-slimaka,ac158/kto-i-dlaczego-jadl-slimaki,120> [dostęp: 17.03.2021].
- Ptak-Iglewska A., 2019. Eksport winniczków się ślimaczy. <https://www.rp.pl/Przemysl-spozywczy/303319985-Eksport-winniczkow-sie-slimaczy.html> [dostęp: 18.03.2021].
- Smith A.M., Robinson T.M., Salt M.D., Hamilton K.S., Silvia B.E., Blasiak R., 2009. Robust cross-links in molluscan adhesive gels: testing for contributions from hydrophobic and electrostatic interactions. *Comp. Biochem. Physiol. B: Biochem. Mol. Biol.* 152(2), 110–117. <https://doi.org/10.1016/j.cbpb.2008.10.004>
- Song Y., Cui Y., Hao L., Zhu J., Yi J., Kang Q., Huang J., Lu J., 2021. Wound-healing activity of glycoproteins from white jade snail (*Achatina fulica*) on experimentally burned mice. *Int. J. Biol. Macromol.* 175, 313–312. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.01.193>
- Szkucik K., Ziomek M., Maćkowiak-Dryka M., Paszkiewicz W., 2011. Ślimaki jadalne – użyteczność, wartość odżywcza i bezpieczeństwo dla zdrowia konsumenta. *Życie Weter.* 86(8), 631–635.
- Thomas S., 2013. Medicinal use of terrestrial molluscs (slugs and snails) with particular reference to their role in the treatment of wounds and other skin lesions. <http://www.worldwide-wounds.com/2013/July/Thomas/slug-steve-thomas.html> [dostęp: 18.03.2021].
- Trapella C., Rizzo R., Gallo S., Alogna A., Bortolotti D., Casciano F., Zauli G., Secchiero P., Voltan R., 2018. *HelixComplex* snail mucus exhibits pro-survival, proliferative and promigration effects on mammalian fibroblasts. *Sci. Rep.* 8, 17665. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-35816-3>
- Tsoutsos D., Kakagia D., Tamparopoulos K., 2009. The efficacy of *Helix aspersa* Müller extract in the healing of partial thickness burns: a novel treatment for open burn management protocols. *J. Dermatol. Treat.* 20(4), 219–222. <https://doi.org/10.1080/09546630802582037>
- Tunçay G.Y., Bulut M., 2019. A bioethical approach: vegan and vegetarian experiences. *Progr. Nutr.* 21(2), 375–381. <https://doi.org/10.23751/pn.v21i2.6885>
- Wójcicki M., 2017. Ślimak, ślimak pokaż... swoje właściwości dobroczynne dla urody! *Mark. Apteka* 2(5), 8.
- Zajac K., 2016. Sekretne życie ślimaków. *Wszechświat* 117 (4–6), 137–140.



## **Analiza rearanżacji w rejonie regulatorowym genu *VvmybA1* winorośli warunkującym barwę owoców**

Analysis of rearrangements in the regulatory region of the *VvmybA1* gene in grapevine determining fruit colour

U organizmów eukariotycznych występują rozproszone powtórzenia, których jednostki są rozmieszczone w sposób losowy; ułożenie powtórzeń jest wynikiem transpozycji. Transpozycja to proces przemieszczania się fragmentu DNA z jednego miejsca na drugie. Ruchome odcinki DNA podlegające procesowi transpozycji noszą nazwę ruchomych elementów genetycznych [Brown 2018]. Ze względu na mechanizm transpozycji ruchome elementy genetyczne podzielono na dwie główne klasy [Bourque i in. 2018].

Klasa I to ruchome elementy nazywane retrotranspozonomi; charakteryzują się one transpozycją replikacyjną, w której pośredniczy RNA. Transpozycja replikacyjna rozpoczyna się od transkrypcji, w której wyniku powstaje kopia RNA poddawana następnie odwrotnej transkrypcji. Uzyskany dwuniciowy odcinek DNA jest włączany do genomu organizmu na chromosomie tym samym co cząsteczka macierzysta bądź innym. W wyniku tego procesu dwie kopie transpozonu występują w dwóch różnych lokalizacjach. Retrotranspozony można podzielić na dwa rzędy: zawierające długie powtórzenia końcowe (LTR – *long terminal repeats*) oraz niezawierające ich (non-LTR – *non-long terminal repeats*) [Bourque i in. 2018, Brown 2018].

Sekwencje LTR odgrywają znaczącą rolę w procesie syntezy kopii RNA transpozonu. Rejon LTR na końcu 5' elementu posiada sekwencję TATA stanowiącą promotor transkrypcji z udziałem polimerazy RNA II. Proces zachodzi na całym elemencie, aż do końca 3', na którym znajduje się ogon poli-A [Brown 2018]. Retrotranspozony LTR wbudowują się do genomu poprzez przeniesienie nowej nici katalizowane przez integrazę [Brown i in. 1987]. Ze względu na kolejność domen odwrotnej transkryptazy oraz integrazy w genach *pol* retrotranspozony zawierające długie powtórzenia końcowe podzielono na dwie rodziny: Ty3 (gypsy) oraz Ty1 (copia) [Friesen i in. 2001].

Druga klasa ruchomych elementów genetycznych obejmuje transpozony DNA podlegające transpozycji konserwatywnej. Proces ten polega na wycięciu odcinka DNA i wstawieniu go w inne miejsce w genomie. Taki rodzaj transpozycji nie powoduje zwiększenia liczby kopii transpozonu, lecz zmienia tylko jego położenie [Brown 2018].

Proces transpozycji ruchomych elementów nie jest precyzyjny, co wpływa na genom organizmu, w którym zachodzi ten proces. Transpozycja może powodować duplikacje, w których wyniku zmianie ulega sekwencja genów gospodarza [Bourque i in. 2018]. Na skutek transpozycji mogą powstawać dwuniciowe pęknięcia DNA, co narusza

---

<sup>1</sup> Uniwersytet Rolniczy im. Hugona Kołłątaja w Krakowie, Wydział Biotechnologii i Ogrodnictwa, Katedra Biologii Roślin i Biotechnologii, [anna.lechowicz98@gmail.com](mailto:anna.lechowicz98@gmail.com)

strukturę genomu [Brown 2018]. W momencie wbudowania transpozonu w egzony może dojść do inaktywacji genu. Retrotranspozony mają sekwencje wzmacniające ekspresję oraz promotory mogące oddziaływać na otaczające je geny i wpływać na ich ekspresję. Ruchome elementy genetyczne stanowią bardzo liczną frakcję w genomach wielu roślin i mogą pełnić użyteczne funkcje, np. w genomie kukurydzy, gdzie obejmują około 2/3 całego jej genomu [Schnable i in. 2009], a tam wpływają m.in. na kwitnienie [Castelletti i in. 2014], adaptację do umiarkowanych stref klimatycznych oraz tolerancję na suszę [Mao i in. 2015].

Wśród winorośli uprawianej w Polsce wyróżnia się odmiany o barwie owoców czerwonej i białej. Za kolor jagód odpowiedzialne są naturalne barwniki roślinne – antocyjany występujące w wakuolach i komórkach organizmów roślinnych [Wilenska-Jeszka 2007].

Rodzina genów *Myb* występuje wyłącznie u organizmów eukariotycznych [Yang i wsp. 2003] i odpowiada za wiele funkcji, głównie u roślin [Martin i Paz-Ares 1997]. Geny *Myb* są kontrolowane przez hormony roślinne i biorą udział w procesach związanych z rolą epidermy [Yanhui i wsp. 2006]. W genomie winorośli zlokalizowano łącznie 276 genów *Myb*, które znajdują się na prawie wszystkich chromosomach, z wyjątkiem chromosomu 10. Największa ilość genów *Myb* znajduje się na chromosomach: 2, 4 i 14 [Matus i in. 2008]. Dotychczas u winorośli scharakteryzowano następujące geny *Myb* biorące udział w syntezie flawonoidów: *MYBA* [Kobayashi i in. 2002], *MYB5a* (*MYBCS-1*) [Deluc i in. 2006], *MYB5b* [Deluc i in. 2008] i *MYBPA1* [Bogs i in. 2007].

Za kolor winorośli odpowiadają geny *Myb* znajdujące się na chromosomie 2 [Azuma i in. 2009], gdzie zlokalizowane są *loci* dla genów *VvmybA1* oraz *VvmybA2* [Kobayashi i in. 2004, Yakushiji i in. 2006]. Gen *VvmybA1* występuje w odmianach winorośli pochodzących z *Vitis vinifera* i odpowiada za akumulację antocyjanów w skórce owoców winogron [Kobayashi i in. 2002, 2004, 2005]. Zabarwienie skórki winogron zależy także od genotypu genu *VvmybA1* [Lijavetzky i in. 2006]. Ekspresja genu *VvmybA1* jest zablokowana w allelu *VvmybA1a* poprzez insercję retrotranspozonu *Gret1*. Allele *VvmybA1b* i *VvmybA1c* są natomiast funkcjonalne. *VvmybA1b* posiada solo-LTR retrotranspozonu w pobliżu sekwencji kodującej gen *VvmybA1* [Kobayashi i in. 2004, 2005].

Retrotranspozon *Gret1* należy do rodziny Ty3/gypsy [Pereira i in. 2005], ma długość 10 422 par zasad. Jedna z jego kopii jest zlokalizowana w rejonie regulatorowym genu *VvmybA1* [Kobayashi i in. 2004]. Obecność *Gret1* warunkuje występowanie mutacji genu *VvmybA1* w większości białych odmian winorośli *Vitis vinifera*. Insercja retrotranspozonu w promotorze tego genu warunkuje jego wyciszenie (*knock-out*) [Kobayashi i in. 2002]. Winorośl o barwie czerwonej może jednak posiadać również insercję *Gret1*, ale w układzie heterozygotycznym. Liczba kopii retrotranspozonu występująca u winorośli czerwonej jest znacznie niższa niż u odmian białych w obrębie tego samego gatunku [Cadle-Davidson i in. 2008].

Większość winogron o białych owocach jest homozygotyczna względem genu *VvmybA1a*. Natomiast winorośl o czerwonym kolorze jagód może występować jako homozygota pod względem genu *VvmybA1c* bądź heterozygota wariantów *VvmybA1a/VvmybA1b* lub *VvmybA1a/VvmybA1c* [Azuma i in. 2007, Kobayashi i in. 2004, Lijavetzky i in. 2006, This i in. 2007].

Celem niniejszej pracy było określenie wariantów genetycznych genu *VvmybA1* występujących w odmianach winorośli uprawianej w Polsce oraz ocena ekspresji tego genu w skórkach jagód winogron.

## Material i metody

Do badań wybrano cztery odmiany winorośli uprawianej w Polsce: Rondo i Regent o czerwonym kolorze owoców oraz Solaris i Seyval Blanc o barwie białej. Wszystkie z tych odmian wywodzą się z rodzimej odmiany *Vitis vinifera*. W połowie października pobrano próbki z „Winnicy w Starym Sadzie” zlokalizowanej na Podkarpaciu. Z każdej odmiany winorośli pobrano po trzy liście (każdy z innego krzewu), które posłużyły jako materiał roślinny do izolacji DNA. Z odmian Regent i Seyval Blanc pobrano po cztery kiście, a z nich – po 20 jagód, usunięto miąższ, zaś uzyskane skórki pakowano po pięć sztuk. Wszystkie próbki zamrożono w temp.  $-80^{\circ}\text{C}$ .

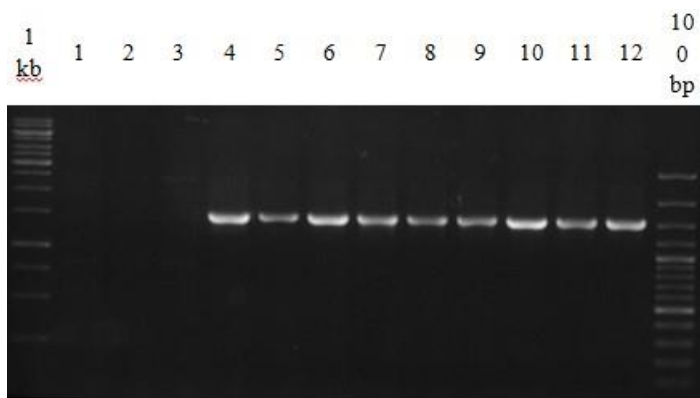
Izolację DNA wykonano zgodnie z metodą opisaną przez Murraya i Thompsona (1980) z zastosowaniem modyfikacji opisanej przez Briard i wsp. (2000). Wyizolowane DNA ze wszystkich pobranych liści poddano rozdzielaniu elektroforetycznemu w 1-proc. żelu agarozowym. Następnie wykonano PCR (ang. *polymerase chain reaction*), wykorzystując startery zaprojektowane przez Azumę i in. (2008) dla genu *VvmybA1a* (F1, R1), *VvmybA1c* (F2, R1), *VlmybA1-2* (F3, R2). Wykonano szereg reakcji PCR z użyciem: F1, R1, F1, R1, F2, R1 oraz F3, R2. Objętość próbki do PCR wynosiła 20  $\mu\text{l}$ , wykonano po dwa powtórzenia każdej próby. Profil termiczny reakcji był zgodny z publikacją Azumy i wsp. (2008). Produkty PCR poddano elektroforezie w 1-proc. żelu agarozowym. Po rozdzielaniu wybrane prążki wycięto z żelu i oczyszczono za pomocą zestawu Wizard<sup>®</sup> SV Gel and PCR Clean-Up System firmy Promega.

Z każdej kiści winorośli pobrano po jednej próbie (pięć skórek) i wyizolowano RNA za pomocą zestawu NucleoSpin<sup>®</sup> RNA Plant and Fungi (Macherey-Nagel). Izolację wykonano zgodnie z procedurą dotyczącą jagód winogron, pobierając około 150 mg rozrartej tkanki po homogenizacji. Przeprowadzono elektroforezę w 1-proc. żelu agarozowym. Następnie wyizolowane RNA poddano traktowaniu deoksyrybonukleazą (DNaza) za pomocą zestawu TURBO DNA-free<sup>™</sup> Kit firmy Invitrogen (Ambion). Próbki po trawieniu DNazą również poddano rozdzielaniu elektroforetycznemu w 1-proc. żelu agarozowym. Następnie przeprowadzono odwrotną transkrypcję za pomocą zestawu iScript<sup>™</sup> Reverse Transcription Supermix for RT-qPCR firmy BIO-RAD. Objętość pobranego RNA obliczono ze względu na stężenie RNA. Ilość pobranego RNA do badania wynosiła 1000 ng. Skuteczność trawienia DNazą sprawdzono za pomocą rozdzielania elektroforetycznego. W celu skontrolowania efektywności starterów wykonano PCR na puli wszystkich cDNA, w którym wykorzystano startery o stężeniu 10  $\mu\text{M}$  dla genu *VvmybA1* użyte przez Röckela i wsp. (2020). Jako geny referencyjne wykorzystano aktywną użytą przez Röckela i wsp. (2020) oraz ubikwitynę użytą przez Fujitę i in. (2005). Uzyskane produkty poddano elektroforezie w 1-proc. żelu agarozowym i wycięto prążki. Wycięte fragmenty oczyszczono za pomocą zestawu Wizard<sup>®</sup> SV Gel and PCR Clean-Up System firmy Promega. Za pomocą internetowego kalkulatora (<http://cels.uri.edu/gsc/cndna.html>) obliczono liczbę powstałych podczas reakcji PCR kopii amplifikowanych fragmentów cDNA. Wykonano serie rozcieńczeń preparatów uzyskanych po oczyszczeniu z żelu, otrzymując przekrój  $10^7$ – $10^3$ . Następnie na przygotowanych rozcieńczeniach przeprowadzono reakcję qPCR; wykorzystując wcześniej wymienione startery i korzystając z wykreślonej krzywej standardowej, obliczono wydajność reakcji dla poszczególnych par starterów. Ekspresję genu *VvmybA1a* sprawdzono za pomocą qPCR (ang. *quantitative polymerase chain reaction*), gdzie wykorzystano nierozcieńczone cDNA jako matrycę. Efektywność starterów oraz ekspresję genu obliczono za pomocą odpowiednio zaprojektowanego arkusza MS Excel. Obliczenia te pozwoliły na

skonstruowanie wykresów. Wyniki ekspresji genów poddano analizie statystycznej, wykorzystując program RStudio i przyjmując istotność statystyczną na poziomie  $p < 0,05$ .

## Wyniki

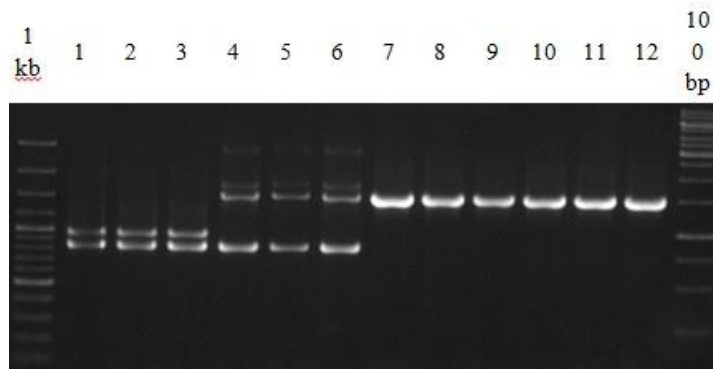
Po izolacji DNA uzyskano preparaty o wysokich stężeniach i jakości, co potwierdził także obraz elektroforetyczny. W związku z tym preparaty DNA rozcieńczono 60-krotnie. Elektroforeza produktów reakcji PCR z użyciem starterów *VvmybA1a* wykazała obecność genu *VvmybA1* wraz z insercją retrotranspozonu *Gret1* u wszystkich odmian winorośli o kolorze białym oraz w części odmian czerwonych (ryc. 1), a wielkość produktu szacuje się na około 1500 pz [Azuma i wsp. 2008]. Brak produktów PCR dla starterów *VlmybA1-2* świadczy o nieobecności tego wariantu u badanych odmian. Elektroforeza produktów PCR ze starterami *VvmybA1a* i *VvmybA1c* ukazała trzy warianty alleliczne genu *VvmybA1* obecne w badanych próbach (ryc. 2). Odmiany winorośli o barwie czerwonej mogą posiadać insercję *Gret1* w układzie heterozygotycznym [Cadle-Davidson i wsp. 2008] (ryc. 2, próbki 1–6).



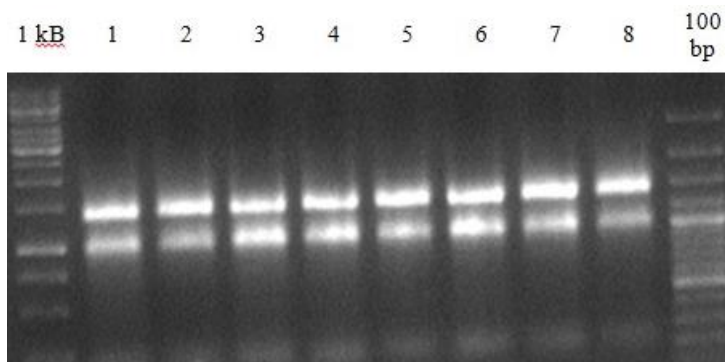
Ryc. 1. Elektroforegram produktów PCR ze starterami *VvmybA1a* (oznaczenia próbek: 1, 2, 3 – Rondo; 4, 5, 6 – Regent; 7, 8, 9 – Solaris; 10, 11, 12 – Seyval Blanc)  
Fot. Anna Lechowicz

Traktowanie preparatów RNA DNazą pozwoliło na dokładne oczyszczenie ich z zanieczyszczeń DNA. Próbkę poddano odwrotnej transkrypcji, aby móc przeprowadzać dalsze analizy. Proces trawienia RNA przebiegł skutecznie, co potwierdził obraz elektroforezy. Ocenę efektywności reakcji rozpoczęto od przeprowadzenia elektroforezy, której wynik ukazał słabo widoczny produkt genu *VvmybA1* – może to świadczyć o niewielkiej liczbie transkryptów mogącej skutkować niskim poziomem jego ekspresji. Liczba kopii obliczona dla wszystkich genów (*VvmybA1* –  $5,26 \cdot 10^{10}$ ; aktyna –  $5,02 \cdot 10^{10}$ ; ubikwityna –  $9,26 \cdot 10^{10}$ ) umożliwiła wykonanie rozcieńczeń cDNA do przedziału  $10^7$ – $10^3$ . Obliczona efektywność starterów genu referencyjnego aktyny wynosiła 97,98%, a ubikwityny – 108,79%. Efektywność starterów genu *VvmybA1* wynosiła 110,24%. Ekspresję genu

*VvmybA1* wyznaczono przy pomocy relatywnego współczynnika ekspresji (RER), wykorzystując wartości *Ct* uzyskane w reakcji qPCR. W przypadku winorośli o białym kolorze skórki nie ma ekspresji genu *VvmybA1* względem obydwu genów referencyjnych (ryc. 4). Względna ekspresja genu *VvmybA1* w czerwonych skórkach wynosiła średnio 1,48 względem aktyny i ubikwityny i była istotnie wyższa niż w skórkach białych ( $p = 0,0049$ ).

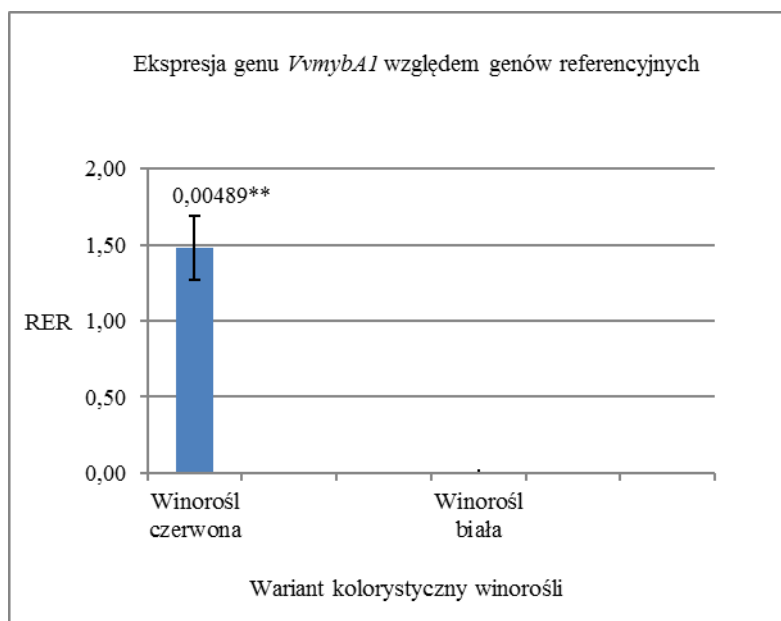


Ryc. 2. Elektroforegram produktów PCR ze starterami *VvmybA1a* i *VvmybA1c* (oznaczenia próbek: 1, 2, 3 – Rondo; 4, 5, 6 – Regent; 7, 8, 9 – Solaris; 10, 11, 12 – Seyval Blanc)  
Fot. Anna Lechowicz



Ryc. 3. Elektroforegram próbek po izolacji RNA (oznaczenia próbek: 1, 2, 3 – Regent; 4, 5, 6 – Seyval Blanc)  
Fot. Anna Lechowicz

Rozdział elektroforetyczny próbek po izolacji RNA ukazuje trzy prążki oznaczające podjednostki rybosomów 28S, 16S oraz 5S, a także transkrypty mRNA, co świadczy o wysokiej integralności i jakości otrzymanych preparatów RNA (ryc. 3).



Ryc. 4. Względna ekspresja genu *VvmybA1* w skórkach owoców winorośli o barwie czerwonej i białej (\*\*oznacza różnicę istotności statystycznej na poziomie  $p < 0,01$ ). Wąsami oznaczono błąd standardowy dla średniej. RER – relatywny współczynnik ekspresji

### Podsumowanie

Uzyskane wyniki analiz potwierdzają, że w odmianach winorośli o białej barwie ekspresja genu *VvmybA1* warunkującego kolor jagód jest zahamowana przez obecność insercji retrotranspozonu *Gret1*. Natomiast winorośl o kolorze czerwonym ma aktywny gen *VvmybA1*, który odpowiada za barwę owoców.

### Bibliografia

- Azuma A., Kobayashi S., Yakushiji H., Yamada M., Mitani N., Sato A., 2007. *VvmybA1* genotype determines grape skin color. *Vitis – J. Grapevine Res.* 46(3), 154–155.
- Azuma A., Kobayashi S., Mitani N., Shiraishi M., Yamada M., Ueno M., Kono A., Yakushiji H., Koshita Y., 2008. Genomic and genetic analysis of Myb-related genes that regulate anthocyanin biosynthesis in grape berry skin. *Theor. Appl. Genet.* 117(6), 1009–1019. <https://doi.org/10.1007/s00122-008-0840-1>
- Azuma A., Kobayashi S., Goto-Yamamoto N., Shiraishi M., Mitani N., Yakushiji H., Koshita Y., 2009. Color recovery in berries of grape (*Vitis vinifera* L.) ‘Benitaka’, a bud sport of ‘Italia’, is caused by a novel allele at the *VvmybA1* locus. *Plant Sci.* 176(4), 470–478, <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2008.12.015>
- Bogs J., Jaffe W., Takos M., Walker R., Robinson P., 2007. The grapevine transcription factor *VvMYBPA1* regulates proanthocyanidin synthesis during fruit development. *Plant Physiol.* 143(3), 1347–1361. <https://doi.org/10.1104/pp.106.093203>

- Bourque G., Burns K., Gehring M., Gorbunova V., Seluanov A., Hammell M., Imbeault M., Izsvák Z., Levin H., Macfarlan T., Mager D., Feschotte C., 2018. Ten things you should know about transposable elements. *Genome Biol.* 19(1), 199. <https://doi.org/10.1186/s13059-018-1577-z>
- Briard M., Le Clerc V., Grzebelus D., Senalik D., Simon P.W., 2000. Modified protocols for rapid carrot genomic DNA extraction and AFLP™ analysis using silver stain or radioisotopes. *Plant Mol. Biol. Rep.* 18(3), 235–241. <https://doi.org/10.1007/BF02823994>
- Brown P., Bowerman B., Varmus H., Bishop J., 1987. Correct integration of retroviral DNA in vitro. *Cell.* 49(3), 347–356. [https://doi.org/10.1016/0092-8674\(87\)90287-X](https://doi.org/10.1016/0092-8674(87)90287-X)
- Brown T.A. 2018. *Genomy*. PWN, Warszawa.
- Cadle-Davidson M.M., Owens C.L., 2008. Genomic amplification of the *Gret1* retroelement in white-fruited accessions of wild *Vitis* and interspecific hybrids. *Theor. Appl. Genet.* 116(8), 1079–1094. <https://doi.org/10.1007/s00122-008-0737-z>
- Castelletti S., Tuberosa R., Pindo M., Salvi S., 2014. A MITE transposon insertion is associated with differential methylation at the maize flowering time QTL *vgt1*. *G3: Gen., Genom., Genet.* 4(5), 805–812. <https://doi.org/10.1534/g3.114.010686>
- Deluc L., Barrieu F., Marchive C., Lauvergeat V., Decendit A., Richard T., Carde J.-P., Mérillon M., Hamdi S., 2006. Characterization of a grapevine R2R3-MYB transcription factor that regulates the phenylpropanoid pathway. *Plant Physiol.* 140(2), 499–511. <https://doi.org/10.1104/pp.105.067231>
- Deluc L., Bogs J., Walker A., Ferrier T., Decendit A., Merillon M., Robinson S., Barrieu F., 2008. The transcription factor VvMYB5b contributes to the regulation of anthocyanin and proanthocyanidin biosynthesis in developing grape berries. *Plant Physiol.* 147(4), 2041–2053. <https://doi.org/10.1104/pp.108.118919>
- Friesen N., Brandes A., Heslop-Harrison J.S., 2001. Diversity, origin and distribution of retrotransposons (*gypsy* and *copia*) in Conifers. *Mol. Biol. Evol.* 18(7), 1176–1188. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.molbev.a003905>
- Fujita A., Soma N., Goto-Yamamoto N., Shindo H., Kakuta T., Koizumi T., Hashizume K., 2005. Anthocyanin reductase gene expression and accumulation of flavan-3-ols in grape berry. *Am. J. Enol. Viticult.* 56(4), 336–342.
- Kobayashi S., Ishimaru M., Hiraoka K., Honda C., 2002. *Myb*-related genes of the Kyoho grape (*Vitis labruscana*) regulate anthocyanin biosynthesis. *Planta.* 215(6), 924–933. <https://doi.org/10.1007/s00425-002-0830-5>
- Kobayashi S., Goto-Yamamoto N., Hirochika H., 2004. Retrotransposon-induced mutations in grape skin color. *Science.* 304(5673), 982. <https://doi.org/10.1126/science.1095011>
- Kobayashi S., Goto-Yamamoto N., Hirochika H., 2005. Association of *VvmybA1* gene expression with anthocyanin production in grape (*Vitis vinifera*) skin-color mutants. *JJSHS.* 74(3), 196–203. <https://doi.org/10.2503/jjshs.74.196>
- Lijavetzky D., Ruiz-García L., Cabezas J., De Andrés M., Bravo G., Ibáñez A., Carreño J., Cabello F., Ibáñez J., Martínez-Zapater J., 2006. Molecular genetics of berry colour variation in table grape. *Mol. Genet. Genomics.* 276(5), 427–435. <https://doi.org/10.1007/s00438-006-0149-1>
- Mao H., Wang H., Liu S., Li Z., Yang X., Yan J., Li J., Tran M., Qin F., 2015. A transposable element in a NAC gene is associated with drought tolerance in maize seedlings. *Nat. Commun.* 6(1), 8326. <https://doi.org/10.1038/ncomms9326>
- Matus T., Aquea F., Arce-Johnson P., 2008. Analysis of the grape *MYB R2R3* subfamily reveals expanded wine quality-related clades and conserved gene structure organization across *Vitis* and *Arabidopsis* genomes. *BMC Plant Biol.* 8(1), 83–100. <https://doi.org/10.1186/1471-2229-8-83>
- Martin C., Paz-Ares J., 1997. MYB transcription factors in plants. *Trends Genet.* 13(2), 67–73. [https://doi.org/10.1016/S0168-9525\(96\)10049-4](https://doi.org/10.1016/S0168-9525(96)10049-4)
- Murray M.G., Thomspon W.F., 1980. Rapid isolation of high molecular weight plant DNA. *Nucleic Acids Res.* 8(19), 4321–4326. <https://doi.org/10.1093/nar/8.19.4321>

- Pereira H., Barão A., Delgado M., Morais-Cecílio L., Viegas W., 2005. Genomic analysis of *Grapevine Retrotransposon 1 (Gret1)* in *Vitis vinifera*. *Theor. Appl. Genet.* 111(5), 871–578. <https://doi.org/10.1007/s00122-005-0009-0>
- Rockel F., Moock C., Braun U., Schwander F., Cousins P., Maul E., Topfer R., Hausmann L., 2020. Color intensity of the red-fleshed berry phenotype of *Vitis vinifera* teinturier grapes varies due to a 408 bp duplication in the promoter of *VvmybA1*. *Genes.* 11(8), 891–911. <https://doi.org/10.3390/genes11080891>
- Schnable P., Ware D., Fulton R., Stein J., Wei F., Pasternak S., Liang C., Zhang J., Fulton L., Graves T., et al., 2009. The B73 maize genome: complexity, diversity, and dynamics. *Science.* 326(5956), 1112–1115. <https://doi.org/10.1126/science.1178534>
- This P., Lacombe T., Cadle-Davidson M., Owens Ch., 2007. Wine grape (*Vitis vinifera* L.) color associates with allelic variation in the domestication gene *VvmybA1*. *Theor. Appl. Genet.* 114(4), 723–730. <https://doi.org/10.1007/s00122-006-0472-2>
- Wilska-Jeszka J., 2007. *Barwniki*. W: *Chemia żywności*, t. 1, wyd. V zm., Sikorski Z. (red.). WNT, Warszawa, 142–171.
- Yakushiji H., Kobayashi S., Goto-Yamamoto N., Tae Jeong S., Sueta T., Mitani N., Azuma A., 2006. A skin color mutation of grapevine, from black-skinned Pinot Noir to white-skinned Pinot Blanc is caused by the deletion of the functional *VvmybA1* allele. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 70(6), 1506–1508. <https://doi.org/10.1271/bbb.50647>
- Yang T., Perasso R., Baroin-Tourancheau A., 2003. MYB genes in ciliates: a common origin with the *MYB* proto-oncogene? *Protist.* 154(2), 229–238. <https://doi.org/10.1078/143446103322166527>
- Yanhui C., Xiaoyuan Y., Kun H., Meihua L., Jigang L., Zhaofeng G., Zhiqiang L., Yunfei Z., Xiaoxiao W., Xiaoming Q., Yunping S., Li Z., Xiaohui D., Jingchu L., Xing-Wang D., Zhang-liang C., Hongya G., Li-Jia Q., 2006. The MYB transcription factor Superfamily of Arabidopsis: expression analysis and phylogenetic comparison with the rice MYB family. *Plant Mol. Biol.* 60(1), 107–124. <https://doi.org/10.1007/s11103-005-2910-y>



Anna Masłowska<sup>1</sup>, Julia Kusy<sup>1</sup>, Marek Kowalczyk<sup>1</sup>, Piotr Domaradzki<sup>1</sup>,  
Monika Kędzierska-Matysek<sup>1</sup>, Anna Teter<sup>1</sup>, Piotr Skąlecki<sup>1</sup>,  
Agnieszka Kaliniak-Dziura<sup>1</sup>, Małgorzata Dmoch<sup>1</sup>

## **Metody sensoryczne w ocenie jakości kosmetyków**

Sensory methods in assessing the quality of cosmetics

Chociaż produkty kosmetyczne stanowią nieodłączny element codziennej higieny i pielęgnacji ciała, to muszą również sprostać rosnącym wymaganiom konsumentów. Konsument, nabywając produkt, oczekują od niego nie tylko podstawowych właściwości, jak bezpieczeństwo czy komfort stosowania, ale również dodatkowych, jak np. działanie nawilżające, regenerujące, *anti age* czy przeciwmarszczkowe. Zgodnie z art. 2, pkt 1b Rozporządzenia Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) nr 1223/2009 z dnia 30 listopada 2009 r. dotyczącego produktów kosmetycznych „produkt kosmetyczny oznacza każdą substancję lub mieszaninę przeznaczoną do kontaktu z zewnętrznymi częściami ciała ludzkiego (naskórkiem, owłosieniem, paznokciami, wargami oraz zewnętrznymi narządami płciowymi) lub z zębami oraz błonami śluzowymi jamy ustnej, którego wyłączeniem lub głównym celem jest utrzymywanie ich w dobrej kondycji lub korygowanie zapachu ciała” [Rozporządzenie nr 1223/2009].

Producenci kosmetyków stają przed trudnym zadaniem zyskania zaufania konsumentów i zaproponowania produktów, które zostaną przez nich zaakceptowane i będą konkurencyjne w stosunku do produktów oferowanych przez inne firmy. Zapewnienie odpowiedniej jakości i bezpieczeństwa produktów kosmetycznych wymaga stałego monitoringu produktu, odpowiednich metod badawczych, jak również wdrożenia właściwych systemów kontroli i zapewnienia jakości.

Do najważniejszych metod badań jakości kosmetyków należy zaliczyć metody instrumentalne, wśród których najważniejsze wydają się chromatografia cieczowa i gazowa (pozwalające na badanie składu produktów kosmetycznych i detekcję zanieczyszczeń), oraz metody spektroskopowe – wykorzystywane do określenia zawartości składników aktywnych w kosmetykach. Metody analizy mikrobiologicznej z kolei znajdują zastosowanie w ocenie bezpieczeństwa kosmetyku i jego stabilności. Wyżej wymienione metody, mimo złożoności i wysokich kosztów analizy, są niezbędne w celu zapewnienia odpowiedniej jakości i bezpieczeństwa preparatu. Obok metod instrumentalnych, chemicznych, fizycznych i mikrobiologicznych na szczególną uwagę zasługują metody sensoryczne, zdecydowanie bliższe konsumentom, ponieważ wykorzystują w ocenie zmysły człowieka. Stanowią one swoiste dopełnienie instrumentalnych i chemicznych metod zapewnienia jakości kosmetyków [Wojtowicz 2015].

---

<sup>1</sup> Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, Wydział Nauk o Zwierzętach i Biogospodarki, marek.kowalczyk@up.lublin.pl

Celem niniejszej pracy była sensoryczna ocena jakości kremów regeneracyjnych i przeciwzmarszczkowych oraz przegląd metod wykorzystywanych w sensorycznym badaniu produktów kosmetycznych.

### Material i metody

Analizę przeprowadzono na czterech sortymentach kremów zakupionych w 2019 r. w lubelskich drogeriach, tj.: produkt A – krem regeneracyjny, B – krem przeciwzmarszczkowy 40+, C – krem przeciwzmarszczkowy 50+ oraz D – krem przeciwzmarszczkowy 60+. Z każdego sortymentu kremów zakupiono po cztery losowo wybrane opakowania pochodzące z różnych partii. Łącznie przebadano 16 prób.

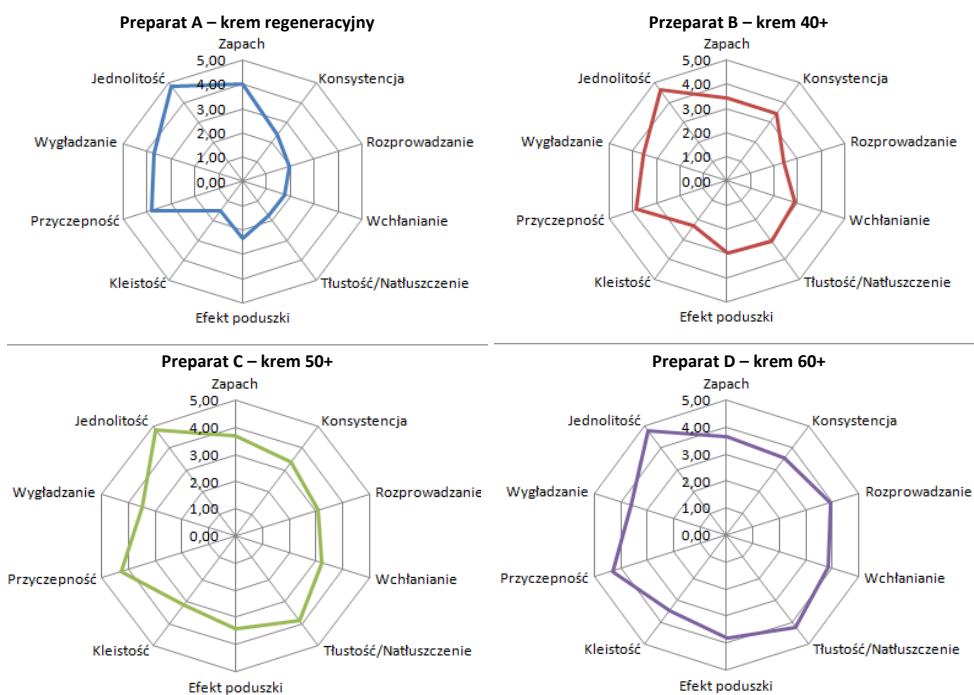
Ocena została przeprowadzona przez grupę 60 kobiet z zastosowaniem metody skalowania. W celu określania jakości sensorycznej dla każdego produktu oceniano następujące wyróżniki: zapach, konsystencję, rozprowadzanie, wchłanianie, natłuszczenie, efekt poduszki, kleistość, przyczepność, zdolność do wygładzania i jednolitość. W badaniu wykorzystano metodę oceny pięciopunktowej łączącej cechy skali werbalnej i liczbowej. Cechy jednostkowe oceniono zgodnie z wytycznymi i kryteriami opracowanymi przez Płocicę i in. [2014] (tab. 1).

Tabela 1. Pięciopunktowa skala oceny sensorycznej badanych kremów wraz z odpowiadającymi im określeniami werbalnymi [Płocica i in. 2014]

Deskrytory	Skala oceny				
	5	4	3	2	1
Zapach	bardzo przyjemny	przyjemny	średnio przyjemny	niezbyt przyjemny	nieprzyjemny
Konsystencja	bardzo ciężka	ciężka	średnia	lekka	bardzo lekka
Rozprowadzanie	bardzo trudno się rozprowadza	trudno się rozprowadza	średnio się rozprowadza	łatwo się rozprowadza	bardzo łatwo się rozprowadza
Wchłanianie/ tłustość	bardzo ciężko się wchłania/ pozostawia tłusty film	ciężko się wchłania/ wysoka tłustość	średnie wchłanianie/ średnio tłusta	dobrze się wchłania/ lekko tłusta	bardzo dobrze się wchłania/ brak filmu
Efekt poduszki/ kleistość	bardzo duży	duży	średni	mały	znikomy
Przyczepność / wygładzanie	bardzo dobra	dobra	średnia	niezbyt dobra	brak przyczepności i zdolności wygładzania
Jednolitość	jednorodna	pęcherzyki powietrza	delikatne grudki	wyczuwalne grudki	rozwarstwia się

## Wyniki

Dla każdego z badanych preparatów, w oparciu o wyniki oceny sensorycznej, opracowano wykres radarowy. Wykazano zbliżony poziom jednolitości wszystkich kremów. Wraz ze wzrostem wieku grupy docelowej, do której kierowany był krem, malała jego zdolność do rozprzodczania, jak również mniejsze było jego wchłanianie. Wzrastała za to kleistość oraz zwiększał się efekt poduszki. Ponadto kremy dla starszej cery wykazywały wyższą tłustość, a ich konsystencja była cięższa (ryc. 1).



Ryc. 1. Profile sensoryczne badanych kremów

Pomiędzy ocenianymi kremami nie wykazano statystycznie istotnych różnic w zakresie jednolitości, zdolności wygładzania czy zapachu ( $p > 0,05$ ; tab. 2). Konsystencja kremów 60+ była cięższa, a przyczepność wyższa w odniesieniu do pozostałych produktów, jednak wykazane różnice nie zostały potwierdzone statystycznie. Najłatwiej rozprzodczal się krem regeneracyjny (średnia ocen: 1,99), z kolei kremy dla grupy 60+ wykazywały istotnie ( $p < 0,05$ ) niższą zdolność do rozprzodczania w porównaniu z kremami 40+ i produktami o właściwościach regeneracyjnych. Kremy przeciwzmarszczkowe wykazywały istotnie ( $p < 0,05$ ) wyższą zdolność natłuszczenia (3,87 – kremy 50+ i 4,19 – kremy 60+) niż krem regeneracyjny (średnia ocen: 1,76). Sensorycznie oceniana zdolność natłuszczenia oraz efekt poduszki wzrastały wraz z wiekiem grupy docelowej, do której skierowany był krem, osiągając kolejno 3,08 i 3,00 dla kremów 40+ oraz 4,19 i 3,80 dla

kremów 60+. Wchłanianie kremów dla grup 50+ i 60+ było istotnie ( $p < 0,05$ ) niższe niż w przypadku pozostałych ocenianych preparatów.

Tabela 2. Wartości średnie wyróżników jakości sensorycznej ocenianych kremów

Wyróżnik	Krem regeneracyjny	Krem 40+	Krem 50+	Krem 60+
	preparat A	preparat B	preparat C	preparat D
Zapach	3,99	3,37	3,67	3,64
Konsystencja	2,36	3,40	3,36	3,53
Rozprowadzanie	1,99 <sup>a</sup>	2,38 <sup>a</sup>	3,09 <sup>ab</sup>	3,91 <sup>b</sup>
Wchłanianie	1,8 <sup>a</sup>	2,86 <sup>a</sup>	3,21 <sup>b</sup>	3,81 <sup>b</sup>
Tłustość/natłuszczenie	1,76 <sup>a</sup>	3,08 <sup>b</sup>	3,87 <sup>c</sup>	4,19 <sup>c</sup>
Efekt poduszki	2,33 <sup>a</sup>	3,00 <sup>a</sup>	3,42 <sup>b</sup>	3,80 <sup>b</sup>
Kleistość	1,51 <sup>a</sup>	2,33 <sup>ab</sup>	3,13 <sup>bc</sup>	3,43 <sup>c</sup>
Przyczepność	3,84	3,87	4,27	4,29
Wyglądanie	3,76	3,54	3,48	3,61
Jednolitość	4,83	4,62	4,83	4,78

Średnie oznaczone różnymi literami różnią się istotnie statystycznie: a, b, c –  $p < 0,05$

### Sensoryczna analiza – zasady i normalizacja

Jakkolwiek badania sensoryczne stanowią niejednorodną grupę technik badawczych, to narzędziem pomiarowym są zawsze zmysły oceniającego. Wskazana metoda jest najbliższa konsumentowi, który mniej lub bardziej świadomie przeprowadza ją podczas każdorazowej aplikacji kosmetyku, a jej wyniki mają kluczowe znaczenie przy dokonywaniu wyborów zakupowych. Wariant oceny sensorycznej prowadzony przez konsumenta, oparty na jego subiektywnych wrażeniach i preferencjach, nazywany jest oceną konsumentką bądź hedoniczną, a więc oceną stopnia akceptacji, preferencji bądź pożądalności ocenianych produktów.

Badania sensoryczne stanowią także ważny element cyklu badawczego kosmetyku, uwzględnianego w trakcie projektowania i wprowadzania produktu na rynek. Choć najwięcej wadą tej grupy metod badawczych wydaje się subiektywność pomiaru oraz ograniczona ilość uzyskiwanych informacji, to rozwój metod, wytycznych i warunków prowadzenia analiz pozwala niwelować te ograniczenia, gwarantując obiektywizm, powtarzalność i odtwarzalność wyników. Przy spełnieniu powyższych kryteriów badacze mają do czynienia z techniką analityczną określaną mianem analizy sensorycznej.

W zapewnieniu jakości i wiarygodności badań sensorycznych pomagają kryteria w stosunku do osób przeprowadzających taką ocenę. Analiza sensoryczna jest prowadzona przez odpowiednio przeszkolony panel sensoryczny, tj. zespół osób, w których przypadku potwierdzono odpowiednie kompetencje i wrażliwość sensoryczną. Wymagania oraz wytyczne dotyczące wyboru i szkolenia osób prowadzących ocenę zawarto m.in. w normach PN-EN ISO 8586:2014-03 oraz PN-ISO 3972:2016-07. Ponadto w normach

znajdują się wytyczne i zasady przeprowadzania badań, np. norma PN-EN ISO 13299:2016-05 dotyczy ustalania profilu sensorycznego produktu, a norma PN-EN ISO 10399:2018-03 zawiera opis metody duo–trio. Z kolei sposób projektowania pracowni do prowadzenia badań sensorycznych określa norma PN-EN ISO 8589:2010 [Mierzejewka 2017]. Normalizacja metod postępowania w ocenie sensorycznej, wymagań oraz wytycznych dla osób oceniających pozwala ograniczyć efekt subiektywności i zapewnić spójność oraz wiarygodność tego typu ocen, pomimo że instrumentem pomiarowym są zmysły oceniających.

Złożoność i wieloaspektowość dostępnych metod badawczych pozwalają nie tylko na porównywanie produktów, ich szeregowanie, ale także na tworzenie złożonych profili sensorycznych dla badanego produktu kosmetycznego.

### **Metody badań sensorycznych**

Najprostszą odmianą badań sensorycznych są metody różnicowe. W ich obrębie wyróżnia się szereg metod, z których najprostszą jest metoda parzysta, tj. porównanie produktów w parach, umożliwiające wskazanie próbki o większej intensywności badanej cechy. Szczegółowe wytyczne dla tej metody zamieszczono w normie PN–ISO 5495:2007. W oparciu o normę możliwe jest stwierdzenie, czy istnieje zauważalna różnica (lub podobieństwo) w natężeniu pojedynczej ocenianej cechy. Stosunkowo prosty przebieg analizy oraz jej krótki czas stanowią istotną zaletę tej metody. Ilość uzyskiwanej informacji jest jednak ograniczona, ponieważ możliwe jest wskazanie tylko kierunku różnicy, bez pomiaru jej natężenia. Metoda różnicowa została wykorzystana m.in. w badaniach Wolniaka i Moskaluk-Grochowicz [2016] do porównania kosmetyków zawierających nanocząstki i ich klasycznych odpowiedników (bez nanocząstek).

Metody różnicowe pozwalają również na jednorazowe badanie próbek w większych grupach, w tym celu wykorzystuje się m.in. metodę trójkątową lub duo–trio. W obu przypadkach oceniającym prezentuje się trzy zakodowane próbki. W metodzie trójkątowej w puli prób porównywanych dwie są takie same pod względem badanej cechy, trzecia natomiast różni się od nich [Lawless i Heymann 2010]. Proband powinien wskazać parę identycznych prób i w ten sposób potwierdzić, czy istnieje wykrywalna różnica (lub podobieństwo) pojedynczej badanej cechy jakościowej, bez wskazywania kierunku różnicy. Podobnie jak w przypadku metody parzystej tak i dla metody trójkątowej możliwe jest wskazanie istotności obserwowanych różnic w oparciu o odpowiednie tablice statystyczne [Feliczak-Guzik i in. 2014]. Zasadę metody trójkątowej określa norma PN-EN ISO 4120:2007, a jej wykorzystywanie nie ogranicza się tylko do oceny produktów żywnościowych i kosmetyków, ale także szkolenia i monitorowania sprawności osób oceniających.

Metodą uwzględniającą analizę trzech próbek w jednej serii jest także metoda duo–trio, której wymagania precyzuje norma PN-EN ISO 10399:2018-03. Polega ona na wskazaniu spośród dwóch próbek badanych tej, która jest identyczna ze standardem stanowiącym próbkę trzecią. Metoda pozwala na sprawdzenie, czy między dwiema badanymi próbkami istnieje wyczuwalna różnica, czy też jej nie ma [Lawless i Heymann 2010]. Metoda ma zastosowanie w sytuacji, gdy np. producent dokonuje zmian w składzie, recepturze, metodzie wytwarzania lub przechowywaniu produktu. W takim przy-

padku, porównując próbkę standardową oraz próbkę ze zmodyfikowanej procedury produkcji, możliwe jest określenie, czy modyfikacje wpływały na oceniane parametry. Podobnie jak metoda trójkątowa, metoda duo-trio, może być stosowana w procesie szkolenia i selekcji członków panelu sensorycznego [Yap i Aminah 2011]. Przykładami praktycznego zastosowania metody trójkątowej jest m.in. porównanie skuteczności różnych metod ekstrakcji olejków eterycznych z kwiatów [Paibon i in. 2011] czy też ocena stopnia rozwarstwienia szminek [Richard i in. 2016].

Metody różnicowania, mimo swojej prostoty i ograniczonej liczby uzyskiwanych wyników, są rutynowo wykorzystywane w ocenie produktów kosmetycznych. Stanowią doskonale narzędzie do określenia jednolitości w obrębie partii produktu, powtarzalności procedury wytwarzania, są też dobrym sposobem na porównanie wytwarzanego produktu z innymi kosmetykami dostępnymi na rynku lub decydowanie o tym, który z projektowanych wariantów kosmetyku ma szansę zyskania największej akceptacji wśród konsumentów [Wojciechowski 2012].

Obok metod różnicowych stosowane są bardziej złożone i kompleksowe grupy metod, pozwalające na ocenę wielu wyróżników jakościowych podczas jednej procedury badawczej i w oparciu o uzyskiwanie wyników, tworzenie i porównywanie profili sensorycznych ocenianych produktów.

Przykładem takiej techniki jest metoda ilościowej analizy opisowej (QDA – *Quantitative Descriptive Analysis*). Według jej założeń badane cechy, takie jak zapach czy tekstura, nie stanowią odrębnych cech jakościowych, ale są składowymi profilu sensorycznego. Intensywność każdej cechy jednostkowej przedstawiana jest na skali liniowej (bądź liczbowej). Zastosowanie metody i sposób postępowania są regulowane przez normę PN-EN ISO 13299:2016-05 [Marjańska, Szpakowska, 2014]. Etapem wstępnym do analizy jest ustalenie listy tzw. deskryptorów, a więc wyróżników opisujących dany produkt, a następnie ustalenie skali i/lub przypisanie wartości liczbowych do oceny ich intensywności. Metoda QDA jest relatywnie często wykorzystywana, ponieważ bada jednocześnie wiele właściwości produktu, ponadto może być dopasowana i stosowana w szerokim zakresie prowadzonych prac badawczych. Dane uzyskane z QDA zostały wykorzystane do oceny profili sensorycznych emolientów [Parente i wsp. 2008] oraz kremów [Adejokun i Dodou 2020], oceny zmian zachodzących w produkcie w trakcie przechowywania czy też do porównywania różnych wariantów produktów przed ich wprowadzeniem na rynek.

Specyfika części kosmetyków sprawia, że ocena sensoryczna prowadzona w jednostce czasu nie pozwala na pełną ocenę produktu. Dlatego też wśród metod sensorycznych dostępne są metody oceny zmian intensywności cech produktu w czasie, pozwalające uzyskać wiele istotnych informacji, których stwierdzenie w momencie aplikacji kosmetyku nie jest możliwe. Jednym z przykładów jest ocena perfum, w której dzięki zastosowaniu metody szeregowania i skalowania możliwa jest analiza trwałości i projekcji produktu. Perfumy składają się z trzech nut zapachowych. Podczas oceny najpierw wyczuwa się nutę górną, zwana też nutą głowy, następnie wyczuwalna jest nuta środkowa, tzw. nuta serca, a na końcu nuta dolna, zwana nutą bazową. Pierwsza nuta ma bardzo ważne znaczenie w odbiorze kosmetyku przez konsumenta, gdyż to ona jest wyczuwana na początku. Zazwyczaj są to nuty lekkie, kwiatowe i ulatniające się po kilkunastu, kilkudziesięciu minutach. Kolejną wyczuwalną nutą jest nuta serca i to ona tworzy bukiet oraz decyduje o charakterze perfum – przeważają akordy korzenne i kwiatowe. Ostatnią wyczuwalną nutą perfum jest nuta głębi; to tło perfum decydujące

o charakterze kosmetyku. Metody oceny zmian intensywności zapachu w czasie pomagają m.in. w ocenie trwałości perfum oraz wnioskowaniu o oryginalności produktu [Turek 2010, Szakiel 2017].

## Podsumowanie

Badania sensoryczne są istotnym narzędziem w ocenie jakości produktów kosmetycznych chętnie wykorzystywanym zarówno przez producentów, jak i konsumentów. Z przeprowadzonych badań własnych wynika, że cechy sensoryczne kremów były ściśle związane z grupą docelową, dla której dedykowany był kosmetyk. Kremy do cery dojrzalej były cięższe, trudniej się rozprowadzały i wchłaniały oraz bardziej natłuszczały skórę, co najprawdopodobniej związane jest z większą koncentracją składników czynnych, koniecznością intensywniejszej ochrony naskórka przed utratą wody oraz wzmacnianiem warstwy lipidowej skóry osób starszych.

## Bibliografia

- Adejokun D.A., Dodou K., 2020. Quantitative sensory interpretation of rheological parameters of a cream formulation. *Cosmetics*. 7(1), 2. <https://doi.org/10.3390/cosmetics7010002>
- Feliczak-Guzik A., Bazarnik K., Nowak I., 2014. Analiza sensoryczna i ocena organoleptyczna substancji zapachowych w kosmetykach. *Kosmetol. Estet.* 3(1), 23–27.
- Lawless H.T., Heymann H., 2010. Discrimination testing. W: *Sensory Evaluation of Food*, 2<sup>nd</sup> ed., H.T. Lawless, H. Heymann. Springer, New York.
- Marjańska E., Szpakowska M., 2014. Sensoryczna analiza opisowa wybranych bezalkoholowych napojów gazowanych z dodatkiem soku cytrusowego. *Zesz. Nauk. Akad. Mor. Gdynia*. 86, 198–204.
- Mierzejewska S., 2017. Normy dotyczące analizy sensorycznej. *Inż. Przetw. Spoż.* 3, 44–46.
- Paibon W., Yimnoi C.A., Tembab N., Boonlue W., Jampachaisri K., Nuengchamnon N, Waranuch N., Ingkaninan K., 2011. Comparison and evaluation of volatile oils from three different extraction methods for some Thai fragrant flowers. *Int. J. Cosmet. Sci.* 33(2), 150–156. <https://doi.org/10.1111/j.1468-2494.2010.00603.x>
- Parente M.E., Gámbaro A., Ares G., 2008. Sensory characterization of emollients. *J. Sens. Stud.* 23(2), 149–161. <https://doi.org/10.1111/j.1745-459X.2007.00136.x>
- Turek P., 2010. Kinetyka zmian intensywności zapachu w czasie – propozycja metodyki badania. *Zesz. Nauk. Uniw. Ekonom. Kraków*. 831, 79–88.
- Płocica J., Tal-Figiel B., Figiel W., 2014. Badania reologiczne i sensoryczne stosowane do oceny preparatów kosmetycznych. *Świat Przem. Kosm.* 1, 68–73.
- PN-EN ISO 10399:2018-03 – Analiza sensoryczna. Metodyka. Metoda duo–trio.
- PN-EN ISO 13299:2016-05 – Analiza sensoryczna. Metodyka. Ogólne wytyczne ustalania profilu sensorycznego.
- PN-EN ISO 13299:2016-05 – Analiza sensoryczna – Metodyka. Ogólne wytyczne ustalania profilu sensorycznego.
- PN-EN ISO 3972:2016-07 – Analiza sensoryczna. Metodyka. Metody badania wrażliwości smakowej.
- PN-EN ISO 5495:2007/A1:2016-04 – Analiza sensoryczna. Metodologia. Metoda parzysta.
- PN-EN ISO 8586:2014-03 – Analiza sensoryczna. Ogólne wytyczne wyboru, szkolenia i monitorowania wybranych oceniających i ekspertów oceny sensorycznej.
- PN-EN ISO 8589:2010/A1:2014-07 – Analiza sensoryczna. Ogólne wytyczne dotyczące projektowania pracowni analizy sensorycznej.

- Raport o stanie branży kosmetycznej w Polsce 2017: 15 lat rozwoju. [https://www.kosmetyczni.pl/uploads/Biblioteka/Raport%20o%20stanie%20branz%CC%87y%20kosmetycznej\\_www.pdf](https://www.kosmetyczni.pl/uploads/Biblioteka/Raport%20o%20stanie%20branz%CC%87y%20kosmetycznej_www.pdf) [dostęp: 18.03.2021].
- Richard C., Tillé-Salmon B., Mofid Y., 2016. Contribution to interplay between a delamination test and a sensory analysis of mid-range lipsticks. *Int. J. Cosmet. Sci.* 38(1), 100–108. <https://doi.org/10.1111/ics.12242>
- Rozporządzenie Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) nr 1223/2009 z dnia 30 listopada 2009 r. dotyczące produktów kosmetycznych.
- Szakiel J., 2017. Sensoryczna ocena trwałości wyrobów perfumeryjnych. W: Kierunki badań i rozwoju produktów nieżywnościowych, R. Salerno-Kochan, A. Wolak. Polskie Towarzystwo Towaroznawcze, 131–141.
- Szakiel J., Turek P., 2019. Sensoryczna ocena jakości kosmetycznych produktów nawilżających przeznaczonych do pielęgnacji skóry rąk. *Zesz. Nauk. Uniw. Ekonom. Kraków.* 978 (6), 239–252.
- Turek P., 2010. Kinetyka zmian intensywności zapachu w czasie – propozycja metodyki badania. *Zesz. Nauk. Uniw. Ekonom. Kraków.* 831, 79–88.
- Wojciechowski M., 2012. Analiza sensoryczna kosmetyków – ogólne zasady, metodyka oraz praktyczne zastosowanie. *Świat Przem. Kosmet.* 4, 35–37.
- Wojtowicz E., 2015. Metody analizy związków zapachowych żywności. *Postępy Nauki Technol. Przem. Rol.-Spoż.* 70(4), 102–116.
- Wolniak R., Moskaluk-Grochowicz A., 2016. Badania sensoryczne kosmetyków z i bez nanocząstek – analiza porównawcza. *Zesz. Nauk. Organiz. Zarządz. PŚ.* 87, 455–469.
- Yap K.C.S., Aminah A., 2011. Sensory analysis of lipstick. *Int. J. Cosmet. Sci.* 33(3), 245–250.



## **Dodatki naturalne i syntetyczne stosowane w przetwórstwie mięsa wieprzowego**

Natural and synthetic additives used in the processing of pork

Wieprzowina jest w Polsce najpopularniejszym gatunkiem mięsa i stanowi około 60% całkowitej jego konsumpcji [Świąder i in. 2017]. Przetwórstwo mięsa wieprzowego opiera się na produkcji surowych elementów z trzody chlewnej przeznaczonych do sprzedaży jako mięso kulinarne, a także wytworzeniu gotowych wyrobów do bezpośredniego spożycia. Należą do nich wędliny (kiełbasy, wędzonki, wędliny podrobowe, produkty blokowe), konserwy, a także wyroby garmażeryjne. Wymienione produkty, aby mogłyby trafić do konsumentów, muszą przejść szereg procesów technologicznych oraz spełniać wiele norm jakości. Każdy gotowy produkt powinien być akceptowalny przez przyszłych nabywców, spełniając ich oczekiwania wobec wartości odżywczej i smakowitości. Obecnie obserwuje się wzrost świadomości konsumenckiej w aspekcie bezpieczeństwa zdrowotnego i wartości odżywczej spożywanych produktów [Czech-Zalubska i in. 2019]. W tym kontekście bardzo często porusza się problem stosowania dodatków do żywności, dzięki którym możliwe jest uzyskanie odpowiednich parametrów jakościowych. Zastosowanie określonych dodatków w przetwórstwie mięsa wieprzowego jest pożądane między innymi ze względu na bezpieczeństwo zdrowotne wyprodukowanej żywności. Ponadto wykorzystanie dodatków podwyższa cechy sensoryczne i organoleptyczne, a taki produkt może stać się atrakcyjniejszy dla konsumentów.

Dodatki do żywności pełnią wiele ważnych funkcji, m.in. przedłużają trwałość, zapobiegają niekorzystnym zmianom barwy i smaku, uzyskują powtarzalność w produkcji produktów, ułatwiają prowadzenia procesów produkcyjnych [Kędzior 2014].

Mięso i jego produkty stanowią grupę żywności, która jest bardzo podatna na niekorzystne zmiany przechowalnicze, tj. namnażanie niepożądaną mikroflory oraz procesy oksydacyjne tłuszczu i białka [Falowo i in. 2014]. Doprowadzenie do nieodwracalnych zmian w produkcji powoduje jego nieprzydatność do spożycia, co stanowi bezpośrednie zagrożenie dla zdrowia konsumentów [Gantner i Stokowska 2015]. Obecnie produkcja wyrobów wieprzowych nie jest możliwa bez zastosowania naturalnej lub syntetycznej suplementacji (tab. 1). Jednak, jak podają Shah i in. [2014], produkty fortyfikowane naturalnymi substancjami bioaktywnymi są lepiej postrzegane przez konsumentów, a także specjalistów w dziedzinie zdrowia i żywienia ze względu na potencjalne korzyści zdrowotne.

---

<sup>1</sup> Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, Wydział Nauk o Zwierzętach i Biogospodarki, niedzielskiartek@gmail.com

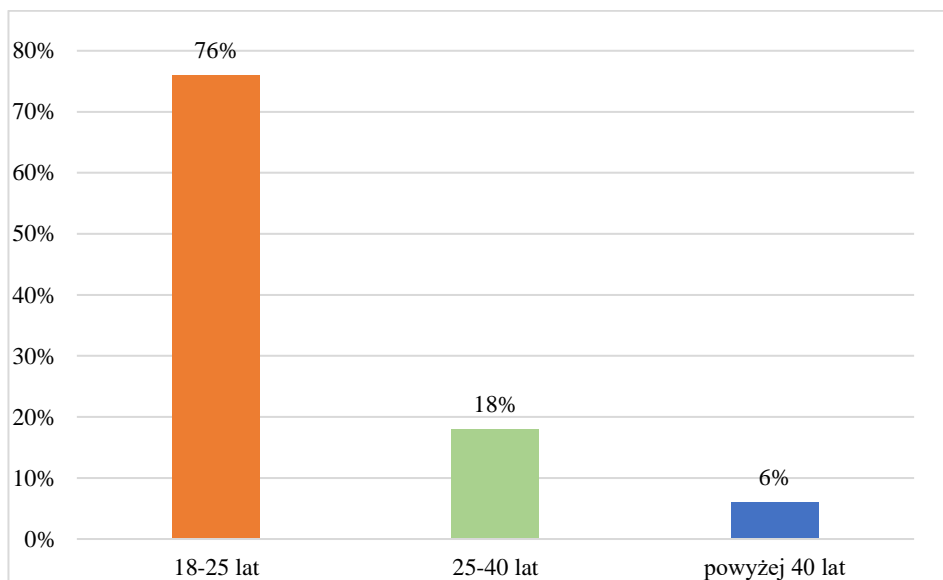
Celem tej pracy było określenie stanu wiedzy i świadomości konsumentów na temat zastosowania naturalnych i syntetycznych dodatków stosowanych w przetwórstwie mięsa wieprzowego.

Tabela 1. Przykłady naturalnych i syntetycznych dodatków stosowanych w przetwórstwie mięsa [Rutkowski i in. 2003]

Funkcja technologiczna dodatku	Nazwa	Sybol	Charakterystyka i pochodzenie	Rodzaj dodatku
Barwniki	koszenila	E120	ciemnoczerwona ciecz lub proszek; barwnik chinolowy pozyskiwany z wysuszonych, zmielonych owoców zwanych czerwcami kaktusowymi ( <i>Dactylopius coccus</i> )	naturalny
	czerwień koszenilowa	E124	czerwony proszek lub granulki; barwnik monoazowy występuje jako sól sodowa oraz potasowa i wapniowa	syntetyczny
Substancje konserwujące	azotan sodu	E251	krystalicznie biały proszek lub przezroczyste kryształy; otrzymywany działaniem kwasu azotowego na wodorotlenek sodu	syntetyczny
	kwas mlekowy	E270	syropowata, bezbarwna bądź żółtawa ciecz; powstaje podczas fermentacji cukrów: dekstrozy (z kukurydzy), sacharozy (z trzciny cukrowej lub buraków ćwikłowych), skrobi (z jęczmienia, kukurydzy, słodu, ziemniaków, ryżu, tapioki lub pszenicy) pod wpływem działania bakterii mlekowych z rodzaju <i>Lactobacillus</i>	naturalny lub syntetyczny
Przeciwutleniające	Galusan propylu	E310	biały bądź jasnokremowy krystaliczny proszek; otrzymywany w wyniku reakcji kwasu galusowego z alkoholem propylowym	syntetyczny
Regulatory kwasowości	mleczan sodu	E325	rozpływające się higroskopijne kryształy lub syropowata, bezbarwna ciecz; otrzymywany poprzez działanie kwasem mlekowym na węglan lub wodorotlenek wapnia	syntetyczny
Stabilizatory i emulgatory	fosforan sodu	E339	ziarnisty lub krystaliczny biały proszek; otrzymywany w reakcji kwasu fosforowego z wodorotlenkiem sodu przy pH 4,5 i ostrożnym wysuszeniu	syntetyczny
Substancje zagęszczające i żelujące	karagen	E407	miątki, pylisty, kremowo-biały lub jasno-brązowy proszek; pozyskuje się go z czerwonych alg ( <i>Rhodophyceae</i> ), które występują naturalnie u wybrzeży Ameryki Północnej, Europy i Wielkiej Brytanii	naturalny
Substancje wzmacniające smak	Kwas glutaminowy	E620	kryształy lub krystaliczny biały proszek; produkcja przemysłowa kwasu glutaminowego polega na fermentacji skrobi pozyskanej z tapioki lub cukru pochodzącego z trzciny cukrowej i buraka cukrowego, przeprowadzonej przez bakterie <i>Corynebacterium glutamicum</i>	syntetyczny

## Material i metody

W badaniu wzięło udział 100 osób: 78 kobiet i 22 mężczyzn. Większość, bo aż 76% ankietowanych, była w przedziale wiekowym 18–25. roku życia. Grupa wiekowa 25–40 lat stanowiła 18%, a osoby powyżej 40. roku życia to 6% ogółu ankietowanych (ryc. 1). Najbardziej prawdopodobnym powodem takiego rozkładu wartości było umieszczenie ankiety w mediach społecznościowych.



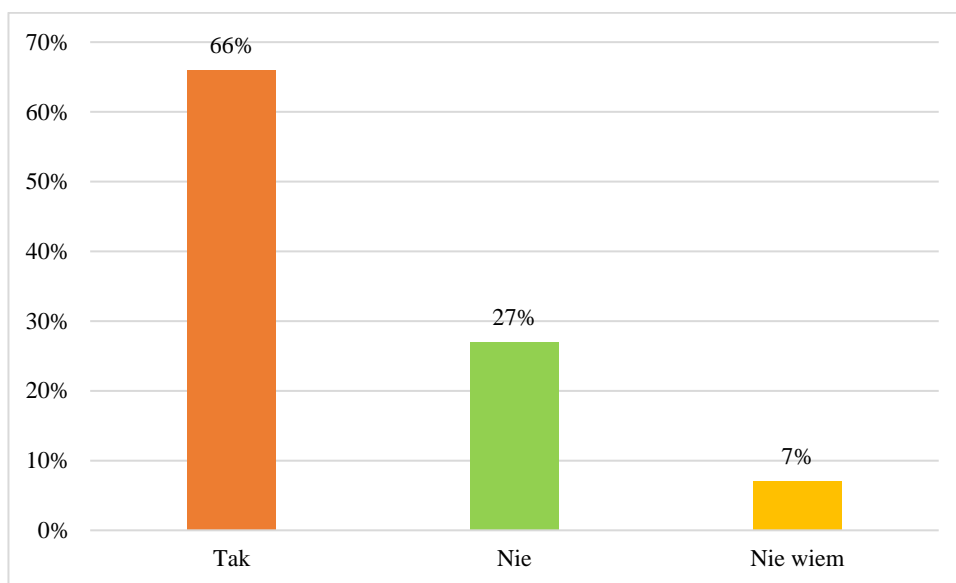
Ryc. 1. Procentowy udział grup wiekowych ankietowanych osób  
Opracowanie własne na podstawie badań ankietowych

## Wyniki i omówienie

Zgodnie z Rozporządzenie Parlamentu Europejskiego i Rady WE nr 1333/2008 [Dz.U. L 354 z 31.12.2008] „dodatki do żywności” to substancje, które nie są spożywane same jako żywność, ani nie są stosowane jako charakterystyczny składnik żywności bez względu na swoją ewentualną wartość odżywczą. Celem ich stosowania w przetwórstwie mięsa wieprzowego jest uzyskanie zamierzonych lub spodziewanych rezultatów w trakcie procesu technologicznego. Wszystkie tego typu substancje muszą posiadać pozytywną ocenę Komitetu Food and Agriculture Organization of United Nations/World Health Organization (FAO/WHO) ds. Dodatków do Żywności, która wyznacza współczynnik ADI (ang. *acceptable daily intake*), czyli akceptowalne dzienne pobranie. W Polsce przepisem regulującym stosowanie dodatków do żywności jest Rozporządzenie Ministra Zdrowia z dnia 18 września 2008 r. w sprawie dozwolonych substancji dodatkowych [Dz.U. 2008 nr 177, poz. 1094]. Według niego dopuszcza się stosowanie blisko 400 substancji naturalnych i syntetycznych. Regulacje prawne ściśle określają cel, w jakim

dotatki do żywności mogą być używane, oraz sytuacje, w jakich użycie suplementacji jest niedozwolone.

W przetwórstwie mięsa wieprzowego głównym celem fortyfikowania mięsa i jego wyrobów jest przedłużenie trwałości, zapewnienie bezpieczeństwa zdrowotnego żywności oraz uzyskanie odpowiednich cech jakościowych [Kędzior 2014]. Jak wynika z badań ankietowych, 66% respondentów uważa stosowanie dodatków do żywności za szkodliwe dla zdrowia (ryc. 2). Może być spowodowany brakiem wystarczającej wiedzy na temat przepisów i regulacji prawnych, które określają zasady stosowania substancji dodatkowych. Może również wynikać z populistycznych informacji medialnych.



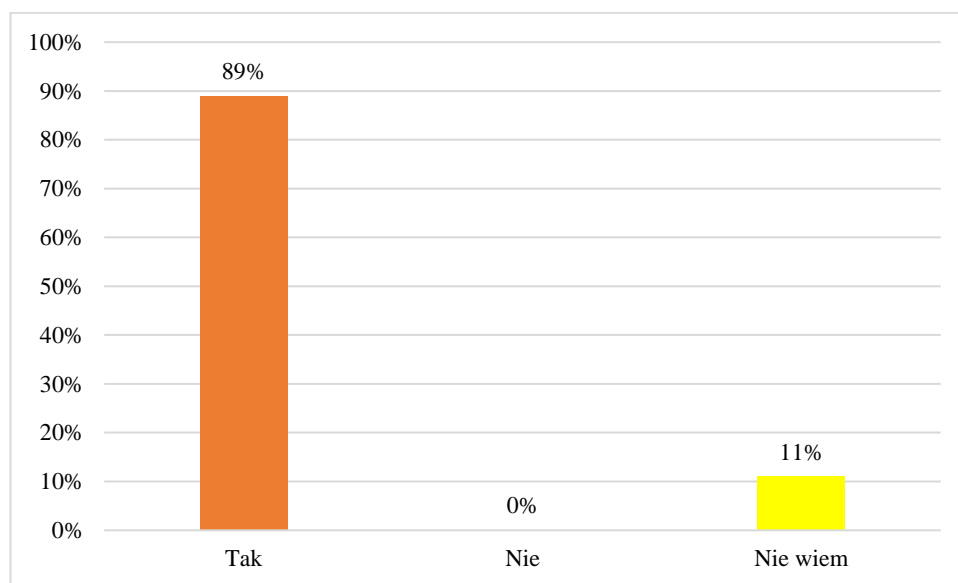
Ryc. 2. Procentowy rozkład odpowiedzi na pytanie: „Czy używanie dodatków do żywności jest szkodliwe dla zdrowia konsumentów?”

Opracowanie własne na podstawie badań ankietowych

Trwałość wyrobów z mięsa wieprzowego wyprodukowanych bez użycia dodatków syntetycznych czy naturalnych jest bardzo niska. Wieprzowina jest podatna na utlenianie lipidów i białek, a skutkiem tego procesu jest pogorszenie jakości technologicznej i konsumpcyjnej [Falowo i in. 2014]. Produkty utleniania wpływają na zmianę barwy, smaku, tekstury oraz wartości odżywczej. W celu spowolnienia procesów oksydacyjnych stosuje się antyoksydanty [Jiang i Xiong 2016]. W tym aspekcie zauważono rosnący trend wykorzystywania substancji bioaktywnych, np. związków fenolowych, olejków lotnych, karotenoidów, witamin oraz bioaktywnych peptydów pozyskiwanych z różnych części roślin [Hathwar i in. 2012]. Do najlepszych źródeł naturalnych przeciwutleniaczy należą zioła, przyprawy, ekstrakty, owoce i warzywa [Ribeiro i in. 2019]. Antyoksydanty roślinne mogą być również składnikiem marynat do mięs bądź farszu garmazeryjnego [Velasco i Williams 2011]. Naturalne dodatki wpływają na wydłużenie terminu przydatności

do spożycia przetworów wieprzowych, poprawiają ich walory smakowe i zapachowe, a niektóre z nich wykazują także działanie prozdrowotne [Mielnik i in. 2003]. Mogą one m.in. obniżyć poziom glukozy we krwi, działać przeciwzapalnie oraz zmniejszać ryzyko chorób sercowo-naczyniowych (CVD – *cardiovascular disease*) [Uluata i Özdemir 2012]. Istnieje duża liczba naturalnych suplementów pozyskiwanych z części roślin, które wykazują aktywność przeciwutleniającą, jednak nie wszystkie mogą być dopuszczone jako dodatek do żywności [Karre i in. 2013].

Większość respondentów (89%) uznała, że dodatek naturalnych substancji wzbogacających mięso i wyroby wieprzowe wpływa pozytywnie na trwałość produktów (ryc. 3). Tak wysoki odsetek osób mających pozytywne zdanie na temat wpływu fortyfikowania naturalnymi substancjami może świadczyć o rosnącej świadomości konsumentów odnośnie do właściwego odżywiania się jako elementu zdrowego trybu życia. Wpływ na taki wynik badania może mieć również wiek ankietowanych. Młode osoby chętniej wykorzystują różnego typu środki masowego przekazu, zwiększając w ten sposób dostęp do pozyskiwania wiedzy na określone tematy.

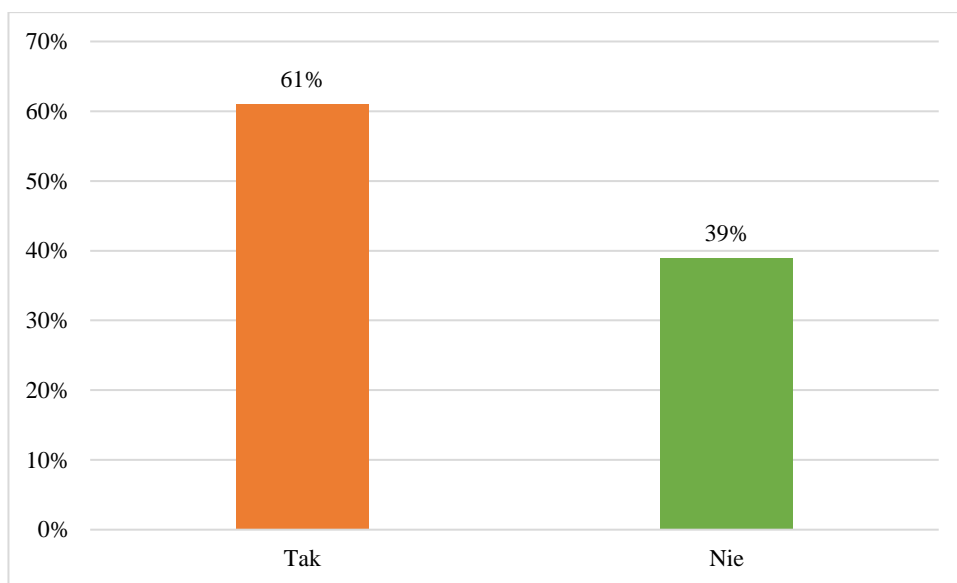


Ryc. 3. Procentowy rozkład odpowiedzi na pytanie: „Czy zastosowanie naturalnych dodatków do żywności wpływa pozytywnie na trwałość wyrobów z mięsa wieprzowego?”  
Opracowanie własne na podstawie badań ankietowych

Konsumenci kierują się różnymi kryteriami podczas bezpośredniego wyboru danego produktu spożywczego. Dla nabywcy mięsa bądź wędliny najważniejszymi wskaźnikami są cena, świeżość oraz barwa produktu [Niedzielski i in. 2020], ale coraz częściej uwaga kupujących koncentruje się na ich składzie chemicznym. Producenci żywności mają prawny obowiązek umieszczania na produkcie odpowiednich informacji o szeroko rozumianej jakości odżywczej. Jednym z najważniejszych elementów prawa żywności-

wego jest umożliwienie nabywcy poprawnego rozpoznania produktu. Wszelkie notyfikacje zawarte na opakowaniach produktów mięsnych muszą być prawdziwe, nie mogą wprowadzać konsumenta w błąd. W Rozporządzeniu Parlamentu Europejskiego i Rady (UE) nr 1169/2011 z dnia 25 października 2011 r. w sprawie przekazywania konsumentom informacji na temat żywności [Dz.U.UE.L.2011.304.18] przedstawiono wykaz obowiązkowych danych, co do których producent jest zobowiązany do umieszczenia na opakowaniu produktu. Jedną z takich informacji jest wykaz składników oraz substancji powodujących alergię lub reakcję nietolerancji, inną – podanie zastosowanych dodatków.

Z badań ankietowych wynika, że większość konsumentów (61%) zwraca uwagę na opis przedstawiony na etykiecie produktów wieprzowych (ryc. 4). Wskazuje to na rosnącą wiedzę społeczeństwa odnośnie do stosowania dodatków, a także możliwość bardzo łatwego sprawdzenia nazwy użytego składnika suplementującego dany produkt. Ponadto potwierdza to trend świadomego odżywiania się, jaki jest obecnie preferowany szczególnie wśród młodzieży i osób aktywnych fizycznie. Ankietowani, którzy nie byli zainteresowani sprawdzaniem etykiet, mogą kierować się utartymi wyborami podczas zakupów danych artykułów mięsnych, ale też problemami z identyfikowaniem specyficznych nazw lub skrótów użytych dodatków.

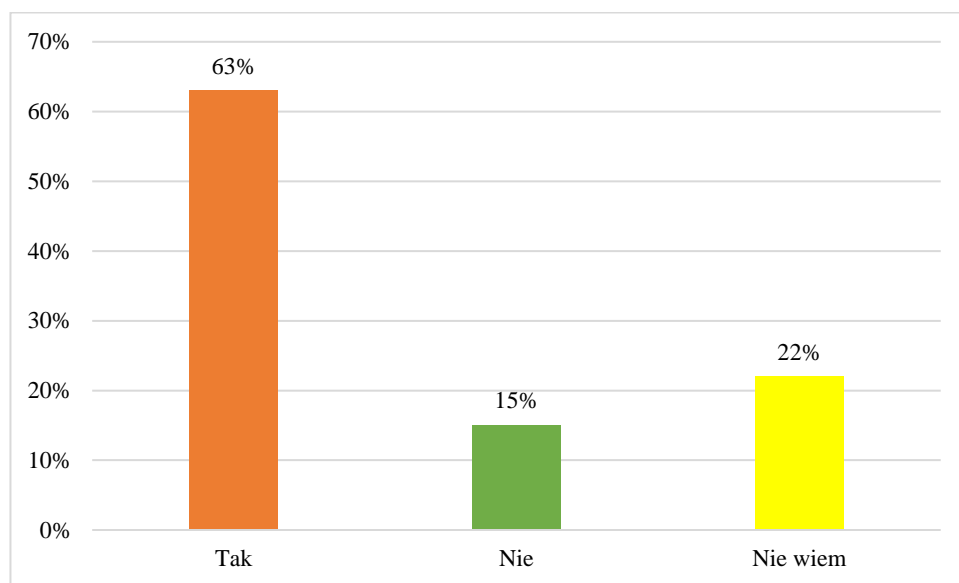


Ryc. 4. Procentowy rozkład odpowiedzi na pytanie: „Czy podczas zakupów produktów z mięsa wieprzowego zwraca Pan/Pani uwagę na zastosowane dodatki?”  
Opracowanie własne na podstawie badań ankietowych

Ważnym czynnikiem wyboru przez konsumentów produktów pochodzenia wieprzowego jest barwa [Kędzior 2014], stanowi ona wskaźnik prawidłowego przebiegu procesów produkcyjnych oraz świeżości produktów. Barwa, która charakteryzuje się odmiennością od typowej dla danego gatunku, wskazuje na nieodpowiednią świeżość lub

jakość wykonanego produktu [Uchman 2008]. Cechę tę kształtują zawarte w tkance mięsniowej barwniki, ale też jej struktura, zawartość tłuszczu i tkanki łącznej [Pisula i Pospiech 2011]. Najważniejszym barwnikiem mięsa jest występująca w nim mioglobina, jakkolwiek produkty wieprzowe mogą być wzbogacone o syntetyczne barwniki. Po przystąpieniu Polski do Unii Europejskiej w 2004 r. krajowe przepisy dotyczące żywności zostały dostosowane do unijnych, a jednym z nich było dopuszczenie stosowania niektórych barwników. Takie działanie nie jest bezpodstawne, ponieważ dodawanie barwników ma na celu zwiększenie trwałości barwy produktów podczas procesów ich przetwarzania [Kędzior 2014]. Jak podają Kalinowska-Dohojda i Banaszekiewicz [2012], dodatek barwników w przetwórstwie mięsa jest powszechnie używany w celu zamaskowania tłuszczu w produktach o gorszym składzie recepturowym, jak również uzyskania prawidłowej barwy produktu wyprodukowanego na bazie surowca o małej zawartości mioglobiny.

Wiadomości z tego zakresu posiadali również respondenci. Większość ankietowanych (63%) wiedziała, że do produkcji wyrobów mięsnych wykorzystywane są barwniki. Natomiast 22% konsumentów stwierdziło, że nie posiada wystarczającej wiedzy, aby jednoznacznie wypowiedzieć się w tym temacie (ryc. 5).

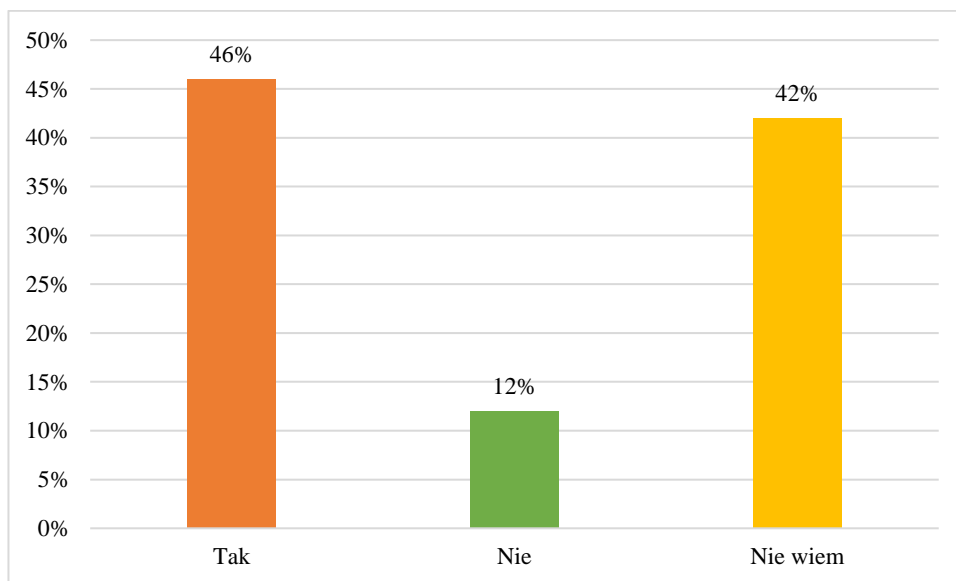


Ryc. 5. Procentowy rozkład odpowiedzi na pytanie: „Czy w przetwórstwie mięsnym stosuje się barwniki do produkcji wyrobów?”  
Opracowanie własne na podstawie badań ankietowych

Dodatki do żywności są otrzymywane w toku wielu procesów. Naturalne dodatki występują w postaci substancji aktywnych pozyskanych z roślin poprzez ekstrakcję polegającą na wydzieleniu substancji chemicznej z roztworu lub mieszaniny substancji stałych [Brewer 2011]. Dodatki syntetyczne można podzielić na identyczne z naturalnymi

oraz sztuczne. Pierwsze z nich są syntetyzowane metodami biotechnologicznymi na drodze syntez chemicznych, procesów enzymatycznych i mikrobiologicznych [Zawirska-Wojtasiak i in. 2004]. Drugie są produkowane wyłącznie w wyniku reakcji chemicznych i charakteryzują się unikatową budową chemiczną niewystępującą w naturze.

Jak wykazały badania ankietowe, 46% respondentów uważało, że naturalne i sztuczne dodatki stosowane do produkcji wyrobów z mięsa wieprzowego występują jako samodzielny środek spożywczy, natomiast 12% było przeciwnego zdania (ryc. 6). Z kolei aż 42% ankietowanych nie znało odpowiedzi na zadane pytanie. Uzyskane wyniki potwierdzają tezę, że niezbędne jest posiadanie specjalistycznej wiedzy z zakresu technologii żywności, aby mieć świadomość, że zarówno naturalne, jak i syntetyczne dodatki używane w produkcji wyrobów w przetwórstwie mięsa wieprzowego nie mogą występować jako samodzielny środek spożywczy.



Ryc. 6. Procentowy rozkład odpowiedzi na pytanie: „Czy naturalne i syntetyczne dodatki do mięsa wieprzowego mogą być składnikami, które funkcjonują jako samodzielny środek spożywczy?”

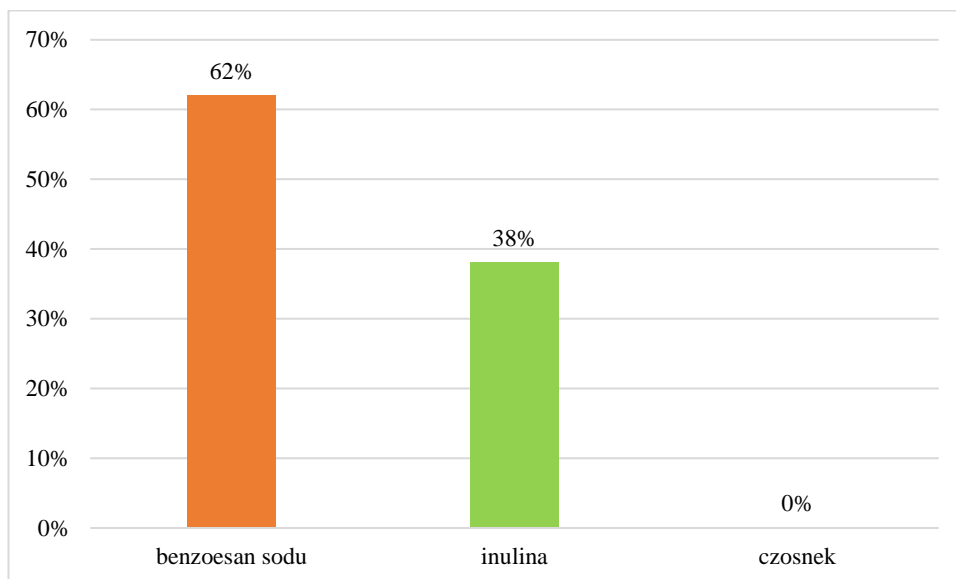
Opracowanie własne na podstawie badań ankietowych

Dodatki stosowane w przetwórstwie mięsnym, jak też w całej produkcji żywności, posiadają często skomplikowane nazwy, które nie są zrozumiałe dla konsumentów. Wśród nabywców może to powodować pewne obawy, czy dany składnik jest bezpieczny dla zdrowia. Wśród najczęściej wykorzystywanych sztucznych dodatków do wyrobów z wieprzowiny należą: BHT (di-tert-butylhydroksytoluen – E321), galusan propylu (E310), galusan oktylu (E311) mające działanie przeciwutleniające i konserwujące [Bartosz 2009].



Naturalne dodatki lub substancje pomocnicze pochodzenia naturalnego stosowane do żywności również mają ściśle określone nazwy niepowiązywane ze źródłem ich pochodzenia, np. światem roślin. Przykładami są allicyna oraz inulina, substancje bioaktywne pozyskiwane odpowiednio z czosnku i cykorii. Specyficzne nazwy tych związków wprowadzają konsumentów w zakłopotanie, czy na pewno są pochodzenia naturalnego oraz czy są bezpieczne dla zdrowia [Howard 2007, Czerwińska 2011].

Analiza odpowiedzi ankietowanych osób wykazała, że większość respondentów (68%) prawidłowo odpowiedziała na pytanie dotyczące pochodzenia dodatków. Benzoosan sodu jest jednym z najbardziej znanych syntetycznych dodatków, jakie są stosowane w przemyśle spożywczym (ryc. 7). Jakkolwiek wysoki procent ankietowanych (38%) stwierdził, że inulina jest sztucznym dodatkiem do żywności, co potwierdza tezę, że znaczna część społeczeństwa nie ma wystarczającej wiedzy na temat nazewnictwa dodatków do żywności oraz ich pochodzenia.



Ryc. 7. Procentowy rozkład odpowiedzi na pytanie: „Która substancja należy do dodatków syntetycznych stosowanych w przetwórstwie mięsa wieprzowego?”  
Opracowanie własne na podstawie badań ankietowych

## Podsumowanie

Pomimo obserwowanego obecnie wzrostu świadomości konsumenckiej w aspekcie bezpieczeństwa zdrowotnego i wartości odżywczej spożywanych produktów aktualna wiedza konsumentów na temat dodatków stosowanych w przetwórstwie żywności pozostaje na średnim poziomie. Przeprowadzone badania ankietowe wykazały, że respondenci ogólnie uważają za szkodliwe dla zdrowia wykorzystywanie dodatków do żywności, co wynika z braku wystarczającej wiedzy na temat przepisów i regulacji prawnych, które

określają zasady ich stosowania. Znaczna część ankietowanych nie ma również wystarczającej wiedzy na temat nazewnictwa dodatków do żywności oraz ich pochodzenia, jakkolwiek konsumenci posiadają podstawowe informacje na temat naturalnych i syntetycznych dodatków stosowanych w przetwórstwie mięsa wieprzowego. Większość respondentów ma świadomość, że do produkcji wyrobów mięsnych wykorzystywane są barwniki oraz że dodatek naturalnych substancji wzbogacających mięso i wyroby wieprzowe wpływa pozytywnie na trwałość produktów. Powyższa zależność może wynikać z tego, że większość konsumentów zapoznaje się z informacjami zamieszczonymi na etykietach przetworów wieprzowych.

### Bibliografia

- Bartosz G., 2009. Druga twarz tlenu. Wolne rodniki w przyrodzie. Wyd. Nauk. PWN, Warszawa, 337–339.
- Brewer M.S., 2011. Natural antioxidants: sources, compounds, mechanisms of action, and potential applications. *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.*, 10(4), 221–247. <https://doi.org/10.1111/j.1541-4337.2011.00156.x>
- Czech-Zalubska K., Domachowska K., Anusz K., 2019. Wymagania konsumentów a stosowanie dodatków w produkcji żywności tradycyjnej i wzbogaconej. *Życie Wet.* 94(2), 153–157.
- Czerwińska D., 2011. Wykorzystanie inuliny w przetwórstwie mięsa. *Gospod. Mięsna*, 63(4), 24–26.
- Dz.U. 2008 nr 177, poz. 1094 – Rozporządzenie Ministra Zdrowia z dnia 18 września 2008 r. w sprawie dozwolonych substancji dodatkowych.
- Dz.U.U.E.L.2011.304.1 – Rozporządzenie Parlamentu Europejskiego i Rady (UE) nr 1169/2011 z dnia 25 października 2011 r. w sprawie przekazywania konsumentom informacji na temat żywności.
- Dz.U. L 354 z 31.12.2008 – Rozporządzenie Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) nr 1333/2008 z dnia 16 grudnia 2008 r. w sprawie dodatków do żywności.
- Falowo A.B., Fayemi P.O., Muchenje V., 2014. Natural antioxidants against lipid–protein oxidative deterioration in meat and meat products: a review. *Food Res. Int.* 64, 171–181. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2014.06.022>
- Gantner M., Stokowska A., 2015. Nie tylko przyprawy przedłużają trwałość mięsa. *Postęp Tech. Przetw. Spoż.* 1, 86–90.
- Hathwar S.C., Rai A.K., Modi V.K., Narayan B., 2012. Characteristics and consumer acceptance of healthier meat and meat product formulations – a review. *J. Food Sci. Technol.* 49, 653–664. <https://doi.org/10.1007/s13197-011-0476-z>
- Howard E.W., Ling M.T., Chua C.W., 2007. Garlic-derived S-allylmercaptocysteine is a novel in vivo antimetastatic agent for androgen – independent prostate cancer. *Clin. Cancer Res.* 13, 1847–1856. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-06-2074>
- Jiang J., Xiong Y.L., 2016. Natural antioxidants as food and feed additives to promote health benefits and quality of meat products: a review. *Meat Sci.*, 120, 107–117. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2016.04.005>
- Kalinowska-Dohojda A., Banaszkiwicz T., 2012. Substancje dodatkowe w przetwórstwie mięsa. *Postęp Nauk. Technol. Przem. Roln. Spoż.*, 67(4), 91–108.
- Karre L., Lopez K., Getty K.J.K., 2013. Natural antioxidants in meat and poultry products. *Meat Sci.* 94(2), 220–227. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2013.01.007>
- Kędzior W., 2014. Substancje dodatkowe w przetwórstwie mięsa i warunki ich stosowania. *Zesz. Nauk. Uniw. Ekonom. Kraków.* 3(927), 9–20. <https://doi.org/10.15678/ZNUEK.2014.0927.0301>

- Mielnik M.B., Aaby K., Skrede G., 2003. Commercial antioxidants control lipid oxidation in mechanically deboned turkey meat. *Meat Sci.* 65, 1147–1155. [https://doi.org/10.1016/S0309-1740\(02\)00345-5](https://doi.org/10.1016/S0309-1740(02)00345-5)
- Niedzielski A., Szymczuk M., Kalinowski J., Kozian Ł., Kowal A., Kropiwić-Domańska K., Kasprzyk A., Babicz M., 2020. Czynniki wyboru przez konsumentów mięsa wieprzowego oraz wędlin podrobowych. W: *Zagrożenia środowiska i bezpieczeństwo żywności*, B. Nowakowicz-Dębek, W. Chabuz (red.). Wyd. UP, Lublin, 8–17.
- Pisula A., Pospiech E., 2011. Mięso: podstawy nauki i technologii. Wyd. SGGW, Warszawa, 162–193.
- Rutkowski A., Gwiazda S., Dąbrowski K., 2003. Kompendium dodatków do żywności. Hortimex. Konin.
- Ribeiro J.S., Santos M., Silva L.K.R., Pereira L.C.L., Santos I.A., da Silva Lannes S.C., da Silva M.V., 2019. Natural antioxidants used in meat products: a brief review. *Meat Sci.* 148, 181–188. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2018.10.016>
- Shah M.A., Bosco S.J., Mir S.A., 2014. Plant extracts as natural antioxidants in meat and meat products. *Meat Sci.* 98(1), 21–33. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2014.03.020>
- Świąder K., Piotrowska A., Rachtan-Janicka J., Rembiałkowska E., Kostyra E., Dybkowska E., Wilk S., 2017. Możliwości otrzymywania funkcjonalnych produktów z mięsa wieprzowego poprzez modyfikowanie technologii ich wytwarzania. *Postęp. Tech. Przetw. Spoż.* 1, 128–135.
- Uchman W. (red.), 2008. *Substancje dodatkowe w przetwórstwie mięsa*. Wyd. UP, Poznań.
- Velasco V., Williams., 2011. Improving meat quality through natural antioxidants. *Chil. J. Agric. Res.*, 71(2), 313–322. <http://dx.doi.org/10.4067/S0718-5839201100020001710.1155/2013/616098>
- Uluata S., Özdemir N., 2012. Antioxidant activities and oxidative stabilities of some unconventional oilseeds. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 89(4), 551–559. <https://doi.org/10.1007/s11746-011-1955-0>
- Zawirska-Wojtasiak R., 2004. Naturalne czy syntetyczne? Substancje dodatkowe w napojach bezalkoholowych. *Kier. Spoż.* 4, 32–34.

## Zimna plazma w produkcji żywności

### Cold plasma in food processing

Zimna plazma (CP – *cold plasma*), uważana za czwarty stan materii, jest rodzajem zjonizowanego bądź częściowo zjonizowanego gazu, który zawiera wiele naładowanych cząstek, atomów w stanie wzbudzonym i podstawowym, reaktywnych związków oraz fotonów UV [Brisset i in. 2016]. Ze względu na udowodnioną efektywność sterylizującą CP znalazła zastosowanie w medycynie [Metelmann i in. 2018], przemyśle spożywczym [Hojnik i in. 2017], rolnictwie oraz ochronie środowiska [Polčić i in. 2018]. W przeprowadzonych do tej pory badaniach udowodniono jej pozytywne działanie m.in. w odkażaniu narzędzi chirurgicznych [Dasan i in. 2017], eliminacji niepożądanych mikroorganizmów z produktów spożywczych [Ekezie i in. 2017] czy oczyszczeniu powietrza, wody i ścieków [Wolny-Koładka i in. 2017]. Tak szerokie spektrum wykorzystania zimnej plazmy wiąże się z jej zdolnością do inaktywacji czynników biologicznych, takich jak: wirusy, bakterie, spory, drożdże czy grzyby [Niedźwiedz i in. 2019]. Plazmę, w zależności od warunków jej generowania, można sklasyfikować ze względu na: ciśnienie atmosferyczne (niskociśnieniowa, wysokociśnieniowa), temperaturę (niskotemperaturowa, wysokotemperaturowa) oraz skład gazu plazmotwórczego (jednoskładnikowa, wieloskładnikowa) [Bourke i in. 2017, Liao i in. 2017]. W inaktywacji czynników biologicznych wykorzystuje się plazmę nietermiczną, która charakteryzuje się temperaturą elektronów ( $T_e$ ) =  $10^4 \sim 10^5$  K oraz brakiem równowagi termodynamicznej. Oznacza to, że elektrony mają wyższą temperaturę niż temperatura cząstek neutralnych ( $T_e \geq T_n$ ), co powoduje, że temperatura samego procesu nieznacznie wzrasta [Laskowska i in. 2016]. Temperatura plazmy jest niezwykle istotna przy obróbce materiałów termolabilnych – nieodpornych na działanie wysokich temperatur. Plazmę nierównowagową otrzymuje się poprzez zastosowanie różnorodnych wyładowań elektrycznych, takich jak: koronowe, mikrofalowe, jarzeniowe oraz barierowe. Typ zastosowanego źródła plazmy bezpośrednio wpływa na skład i liczebność generowanych przez nią komponentów, a co za tym idzie – determinuje jej późniejsze wykorzystanie technologiczne [Niedźwiedz i in. 2019]. Aktywne związki plazmy powstają w wielu reakcjach, m.in. w wyniku neutralizacji jonów, reakcji jonowych czy jonizacji Penninga. W zależności od rodzaju użytego gazu składniki plazmy będą odmiennie. W plazmie, której gazem roboczym jest tlen lub azot bądź mieszanina tych gazów, powstają reaktywne formy tlenu (ROS – *reactive oxygen species*) i reaktywne formy azotu (RNS – *reactive nitrogen species*). W przypadku wykorzystania zim-

---

<sup>1</sup> Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, Wydział Nauk o Żywności i Biotechnologii, Katedra Biotechnologii, Mikrobiologii i Żywnienia Człowieka, koprukowniak.i@gmail.com

nej plazmy w rolnictwie, przemyśle spożywczym oraz medycynie wyładowania barierowe i dżety plazmowe są najczęściej wykorzystywane do generowania zimnej plazmy. Wynika to z ich prostej konstrukcji oraz łatwości modyfikacji [Wiktor i in. 2013].

### **Mechanizm działania zimnej plazmy**

Chociaż w literaturze międzynarodowej jest wiele doniesień naukowych wskazujących na wysoką skuteczność zimnej plazmy w eliminacji niepożądanych mikroorganizmów, to sam mechanizm tego procesu wciąż nie został w pełni poznany [Liao i in. 2017]. Składniki zawarte w plazmie, a w głównej mierze reaktywne związki pochodzące z tlenu bądź azotu, powodują utlenianie białek i lipidów błony, prowadząc do zakłóceń w jej funkcjonowaniu. Powstałe uszkodzenia w zewnętrznych warstwach komórek mogą doprowadzić do przerwania ciągłości błony komórkowej [Bourke i in. 2017]. Dodatkowo siły elektrostatyczne, wywołane gromadzeniem się naładowanych cząstek po zewnętrznej stronie membrany, również mogą spowodować jej dezintegrację [Niedźwiedz i in. 2018]. Z kolei proces elektroporacji, który ma miejsce na skutek wytworzonego pulsacyjnego pola elektrycznego, powoduje przerwanie ciągłości struktur powierzchniowych w wyniku powstania bądź wzrostu mikroporów komórkowych [Wiktor i in. 2013]. Dodatkowo obecne w strumieniu plazmy fotony UV mogą odpowiadać za degradację oraz zmiany w strukturze materiału genetycznego [Liao i in. 2017]. Udział każdego z ww. mechanizmów oraz ich skuteczność w inaktywacji biologicznej jest różny i zależy przede wszystkim od parametrów procesu generowania plazmy, czynników środowiskowych oraz rodzaju i właściwości niszczonej drobnoustrojów.

### **Zastosowanie zimnej plazmy w produkcji żywności**

Ciągły wzrost populacji ludzkiej związany z rozwojem industrializacji i urbanizacji stawia medycynę, przemysł spożywczy i rolnictwo przed ogromnym wyzwaniem, jakim jest zaspokojenie potrzeb społeczeństwa przy jednoczesnym zapewnieniu odpowiedniego poziomu bezpieczeństwa. Szacuje się, że do 2050 r. liczba ludności wyniesie ok. 9,7 mld osób. Oznacza to, że produkcja żywności musi wzrosnąć o 50% w stosunku do roku 2012 [Garcia i in. 2020]. Na świecie już są widoczne negatywne efekty zwiększonej produkcji żywności, jakie ponosi środowisko. Obserwuje się utratę bioróżnorodności, niedobory wody słodkiej czy wyjaławianie gleb. Z tego powodu można zauważyć tendencję do wprowadzania rozwiązań umożliwiających zrównoważoną produkcję żywności, bezpieczną dla konsumenta [Bourke i in. 2018]. Zimna plazma ze względu na szeroko udowodnione działanie inaktywacyjne w stosunku do różnych grup mikroorganizmów stała się interesującą alternatywną techniką w utrwalaniu żywności [Pan i in. 2019]. Badania przeprowadzone na świeżo ciętym melonie eksponowanym na CP wykazały wydłużenie czasu przydatności do spożycia owocu, który był wynikiem opóźnionego wzrostu mikroorganizmów mezofilnych i psychrofilnych [Tappi i in. 2016]. W literaturze dostępnych jest także wiele innych badań wskazujących na to, że zimna plazma eliminuje niepożądane mikroorganizmy nie tylko z owoców, ale także z powierzchni warzyw [Jahid i in. 2014], z soków owocowych [Shi i in. 2011] czy produktów pochodzenia zwierzęcego,

takich jak mięso [Jayasena i in. 2015]. Poziom redukcji niepożądanych mikroorganizmów z produktów spożywczych zależy od właściwości produktu poddawanego procesowi plazmowania, ale także od parametrów prowadzenia samego procesu [Jahid i in. 2014]. W badaniach przeprowadzonych na produktach o odmiennej teksturze (truskawki, sałata, ziemniaki) odnotowano najwyższą skuteczność dekontaminacyjną na powierzchniach gładkich [Fernández i in. 2013]. Poza eliminacją niepożądaną mikroflory istotne jest również to, by wykorzystywane metody utrwalania nie wywierały negatywnego wpływu na właściwości fizykochemiczne i odżywcze produktu spożywczego [Ekezie i in. 2017]. Reaktywne związki obecne w strumieniu plazmy, oprócz interakcji na komórki drobnoustrojów, mogą również wpływać na samą naturę produktu. Dane literaturowe dotyczące wpływu CP na barwę świeżych produktów wskazują, że krótki czas przetwarzania wywiera minimalny wpływ na ich kolor [Misra i in. 2014]. Również kwasowość produktu może się zmienić na skutek utrwalania zimną plazmą, ale w głównej mierze zależy to od typu produktu (ciało stałe, ciecz) [Misra i in. 2014]. Wciąż liczba badań, które wyjaśniałyby zachodzące interakcje pomiędzy matrycą żywnościową a strumieniem plazmy, jest jednak ograniczona.

Dostępne dane literaturowe wskazują, że technologia zimnej plazmy w produkcji żywności może zostać wykorzystana już na poziomie rolnictwa. Udowodniono, że jej zastosowanie spowodowało poprawę kiełkowania nasion czy redukcję niepożądanych mikroorganizmów i owadów w materiale siewnym [El-Aziz i in. 2014]. Doświadczenie sprawdzające wpływ zimnej plazmy na dekontaminację powierzchni nasion, m.in. żyta, owsa, fasoli, zanieczyszczonych grzybami z rodzaju *Aspergillus* i *Penicillium*, wykazało redukcję komórek o trzy cykle logarytmiczne po 15-minutowej ekspozycji na CP [Selcuk i in. 2008]. Zimna plazma, oprócz eliminacji niepożądanych drobnoustrojów, może również zwiększać oporność eksponowanych roślin na patogeny grzybicze. Rośliny (pszenica, łubin, kukurydza), których nasiona wystawiano na działanie CP, charakteryzowały się mniejszą zapadalnością na choroby wywoływane przez *Fusarium* spp. oraz *Ustilago maydis* [Filatova i in. 2016]. Zwiększona oporność na patogeny grzybicze może zredukować wykorzystanie chemicznych środków ochrony roślin, które wywierają negatywny wpływ zarówno na nasze zdrowie, jak i na środowisko. W kwestii aktywności owadobójczej udowodniono, że działanie CP prowadzi do zwiększonej śmiertelności w stadium larwalnym i poczwarkowym ćmy mączki indyjskiej (*Plodia interpunctella*) [El-Aziz i in. 2014]. Oprócz ochrony materiału siewnego przed zagrożeniami biologicznymi zimna plazma przyczynia się do poprawy kiełkowania nasion, zwiększając szybkość i wydajność tego procesu [Jiayun i in. 2014, Ling i in. 2014]. Podniesienie wydajności kiełkowania jest korzystne w sektorze przemysłu słodowniczego czy piwowarskiego i może przyczynić się do zdecydowanego zmniejszenia zużycia energii. Dodatkowo niektóre badania wskazują na to, że rośliny, których nasiona zostały potraktowane zimną plazmą, mogą charakteryzować się innymi parametrami wzrostu (długość korzeni i pędów, sucha masa) czy inną zawartością związków odżywczych, np. fenoli [Sera i in. 2010].

Zimna plazma może zostać także wykorzystana do degradacji mikotoksyn grzybiczych, które – jak wskazują dane FAO (ang. *Food and Agriculture Organization of the United Nations*) – zanieczyszczają aż jedną czwartą światowych upraw. Mikotoksyny, toksyczne dla zwierząt i ludzi, charakteryzują się dużą odpornością na działanie wysokich temperatur, tym samym ich eliminacja jest trudna. Działanie zimnej plazmy na niektóre

mikotoksyny, np. aflatoksynę, deoksyniwalenol i niwalenol, pozwoliło na ich pełną degradację i redukcję toksyczności [Hojnik i in. 2017]. Najprawdopodobniej zmniejszenie toksyczności związane było ze zmianami budowy tych związków w wyniku działania CP [Wang i in. 2015]. Dla zdrowia konsumenta równie niebezpieczne są wykorzystywane w rolnictwie pestycydy. Przeprowadzone do tej pory badania wskazują, że CP może rozkładać pozostałości pestycydów chloroorganicznych i fosforoorganicznych. Dorraki i in. [2016] uzyskali redukcję diazynonu z powierzchni ogórków na poziomie 88% stężenia początkowego po 10-minutowej ekspozycji na zimną plazmę [Dorraki i in. 2016].

W kontekście wykorzystania zimnej plazmy w produkcji żywności warto zwrócić uwagę na możliwość jej zastosowania w oczyszczaniu ścieków wodnych. Przemysł spożywczy zużywa ogromne ilości wody, generując tym samym ścieki. Woda, najczęściej z dodatkiem chloru, jest wykorzystywana do mycia świeżej żywności, dezynfekcji pomieszczeń oraz aparatury. Chlor jest związkiem o silnym działaniu odkażającym, charakteryzującym się szkodliwym wpływem na środowisko i zdrowie ze względu na możliwość powstawania rakotwórczych pochodnych [Ölmez i in. 2009]. Istotne badania pod kątem skutecznego rozkładu materii organicznej w wodzie myjącej i ściekach pochodzących z przemysłu spożywczego przeprowadzili Sarangapani i in. [2017], którzy sprawdzili wpływ plazmy na rozkład tłuszczów. Odnotowali oni znaczną degradację tych związków organicznych ze ścieków pochodzących z przemysłu mleczarskiego i mięsnego.

Kolejnym istotnym problem w produkcji żywności jest erozja gleb. Dostępne metody rekultywacji, takie jak fitostabilizacja czy rekultywacja elektrokinetyczna, ze względu na koszty nie są w pełni zadawalające. Dlatego też naukowcy skierowali swoją uwagę na nowe technologie, w tym na zimną plazmę. Dostępne badania wskazują, że technologia CP może skutecznie wpływać na degradację związków zanieczyszczających glebę. Remediacja gleby zanieczyszczonej chloramfenikolem, eksponowanej na działanie zimnej plazmy, zmniejszyła zanieczyszczenia gleby w stosunku do kontroli o 81%, po 20 min trwania procesu. Wykazano również skuteczną degradację z gleby glifosatu (ok. 94%) przy jednoczesnym braku negatywnego wpływu na kiełkowanie nasion i wzrost siewek [Aggelopoulos i in. 2016]. Z drugiej strony zastosowanie zimnej plazmy do oczyszczania gleby może spowodować redukcję liczby zasiedlających ją mikroorganizmów. Jest to korzystne w celu eliminacji drobnoustrojów glebowych powodujących choroby roślin, natomiast należy pamiętać o obecności bakterii azotowych, które również mogą zostać wyeliminowane.

## Podsumowanie

Ciągły wzrost ludzkości i związana z tym zwiększona produkcja żywności wymuszają poszukiwanie nowych metod obróbki żywności, które nie wywierają negatywnego wpływu na środowisko. Technologie te powinny wpisywać się w trend zrównoważonej produkcji. Zimna plazma ze względu na szereg zalet, takich jak: niska temperatura prowadzenia procesu – zbliżona do temperatury otoczenia, krótki czas obróbki, zminimalizowane zużycie wody, a także wysoka skuteczność przeciwdrobnoustrojowa, w przyszłości może stać się alternatywną metodą konserwacji żywności. Konieczne jest jednak przeprowadzenie dalszych badań, które pozwolą wyjaśnić dokładne mechanizmy działania zimnej plazmy i bezpiecznie wprowadzić tę technologię do przemysłu spożywczego.

## Bibliografia

- Aggelopoulos C.A., Gkelios A., Klapa M.I. Kaltsonoudis C., Svarnas P., Tsakiroglou C.D., 2016. Parametric analysis of the operation of a non-thermal plasma reactor for the remediation of NAPL-polluted soils. *Chem. Eng. J.* 301, 353–361. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2016.05.017>
- Bourke P., Ziuzina D., Boehm D., Cullen P. J., Keener K., 2018. The potential of cold plasma for safe and sustainable food production. *Trends Biotechnol.* 36(6), 615–626. <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2017.11.001>
- Bourke P., Ziuzina D., Han L., Cullen P.J., Gilmore B.F., 2017. Microbiological interactions with cold plasma. *J. Appl. Microbiol.* 123, 308–324. <https://doi.org/10.1111/jam.13429>
- Brisset J.L., Pawłat J., 2016. Chemical effects of air plasma species on aqueous solutes in direct and delayed exposure modes: discharge, post-discharge and plasma activated water. *Plasma Chem. Plasma Process.* 36, 355–381. <https://doi.org/10.1007/s11090-015-9653-6>
- Dasan B.G., Onal-Ulusoy B., Pawłat J., Diatczyk J., Sen Y., Mutlu M., 2017. A new and simple approach for decontamination of food contact surfaces with gliding arc discharge atmospheric non-thermal plasma. *Food Bioprocess Technol.* 10, 650–661. <https://doi.org/10.1007/s11947-016-1847-2>
- Dorraki N., Mahdavi V., Ghomi H., Ghasempour A., 2016. Elimination of diazinon insecticide from cucumber surface by atmospheric pressure air-dielectric barrier discharge plasma. *Biointerphases* 11(4), 041007.
- Ekezie F.G.C., Sun D.W., Cheng, J.H., 2017. A review on recent advances in cold plasma technology for the food industry: current applications and future trends. *Trends Food Sci. Tech.* 69, 46–58. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2017.08.007>
- El-Aziz M.F.A., Mahmoud E.A., Elaragi, G.M., 2014. Non thermal plasma for control of the Indian meal moth, *Plodia interpunctella* (Lepidoptera: Pyralidae). *J. Stored Prod. Res.* 59, 215–221. <https://doi.org/10.1016/j.jspr.2014.03.002>
- Fernández A., Noriega E., Thompson A., 2013. Inactivation of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium on fresh produce by cold atmospheric gas plasma technology. *Food Microbiol.* 33(1), 24–29. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2012.08.007>
- Filatova I., Azharonok V., Lyushkevich V., Zhukovsky A. G., Mildažienė V., Paužaitė G., Malakauskiene A., 2016. The effect of pre-sowing plasma seeds treatment on germination, plants resistance to pathogens and crop capacity. W: IWOPA 2016: 1st international workshop on plasma agriculture, May 15th–20th 2016, A.J. Drexel Plasma Institute [electronic resource]: scientific program. Camden, New Jersey: AJ Drexel Plasma Institute.
- Garcia S.N., Osburn B.I., Jay-Russell M.T., 2020. One health for food safety, food security, and sustainable food production. *Front. Sustain. Food Syst.* 4, 1. <https://doi.org/10.3389/fsufs.2020.00001>
- Hojnik N., Cvelbar U., Tavčar-Kalcher G., Walsh J.L., Križaj I., 2017. Mycotoxin decontamination of food: cold atmospheric pressure plasma versus „classic” decontamination. *Toxins*, 9(5), 151. <https://doi.org/10.3390/toxins9050151>
- Jahid I.K., Han N., Ha, S.D., 2014. Inactivation kinetics of cold oxygen plasma depend on incubation conditions of *Aeromonas hydrophila* biofilm on lettuce. *Food Res. Int.* 55, 181–189. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2013.11.005>
- Jayasena D.D., Kim H.J., Yong H.I., Park S., Kim K., Choe W., Jo C., 2015. Flexible thin-layer dielectric barrier discharge plasma treatment of pork butt and beef loin: Effects on pathogen inactivation and meat-quality attributes. *Food Microbiol.* 46, 51–57. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2014.07.009>
- Jiayun T., Rui H.E., Xiaoli Z., Ruoting Z., Weiwen C., Size Y., 2014. Effects of atmospheric pressure air plasma pretreatment on the seed germination and early growth of *Andrographis paniculata*. *Plasma Sci. Technol.* 16(3), 260.
- Laskowska M., Bogusławska-Wąs E., Kowal P., Hołub M., Dąbrowski W., 2016. Skuteczność wykorzystania niskotemperaturowej plazmy w mikrobiologii i medycynie. *Postępow. Mikrobiol.* 55(2), 172–181.



- Liao X., Liu D., Xiang Q., Ahn J., Chen S., Ye X., Ding T., 2017. Inactivation mechanisms of non-thermal plasma on microbes: a review. *Food Control*. 75, 83–91. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2016.12.021>
- Ling L., Jiafeng J., Jiangang L., Minchong S., Xin H., Hanliang S., Yuanhua D., 2014. Effects of cold plasma treatment on seed germination and seedling growth of soybean. *Sci. Rep.* 4(1), 1–7. <https://doi.org/10.1038/srep05859>
- Metelmann H.R., Seebauer C., Miller V., Fridman A., Bauer G., Graves D.B., Pouvesle J.-M., Rutkowski R., Schuster M., Bekeschus S., Wende K., Masur K., Hasse S., Gerling T., Hori M., Tanaka H., Choi E.H., Weltmann K.-D., von Woedtke T., 2018. Clinical experience with cold plasma in the treatment of locally advanced head and neck cancer. *Clin. Plasma Med.* 9, 6–13. <https://doi.org/10.1016/j.cpm.2017.09.001>
- Misra N.N., Pankaj S.K., Walsh T., O'Regan F., Bourke P., Cullen P.J., 2014. In-package nonthermal plasma degradation of pesticides on fresh produce. *J. Hazard. Mater.* 271, 33–40. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2014.02.005>
- Niedźwiedź I., Waśko A., Pawłat J., Polak-Berecka M., 2019. The state of research on antimicrobial activity of cold plasma. *Pol. J. Microbiol.* 68(2), 153–164. <https://doi.org/10.33073/pjm-2019-028>
- Ölmez H., Kretzschmar U., 2009. Potential alternative disinfection methods for organic fresh-cut industry for minimizing water consumption and environmental impact. *LWT – Food Sci. Technol.* 42(3), 686–693. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2008.08.001>
- Pan Y., Cheng J.H., Sun D.W., 2019. Cold plasma-mediated treatments for shelf life extension of fresh produce: a review of recent research developments. *Compr. Rev. Food Sci. Food Safe.* 18(5), 1312–1326. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12474>
- Polčic P., Pakosová L., Chovančíková P., Machala Z., 2018. Reactive cold plasma particles generate oxidative stress in yeast but do not trigger apoptosis. *Can. J. Microbiol.* 64, 367–375. <https://doi.org/10.1139/cjm-2017-0753>
- Sarangapani C., Devi R.Y., Thirumdas R., Trimukhe A.M., Deshmukh R.R., Annapure U. S. 2017. Physico-chemical properties of low-pressure plasma treated black gram. *LWT – Food Sci. Technol.* 79, 102–110. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.01.017>
- Selcuk M., Oksuz L., Basaran P., 2008. Decontamination of grains and legumes infected with *Aspergillus* spp. and *Penicillium* spp. by cold plasma treatment. *Bioresour. Technol.* 99(11), 5104–5109. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2007.09.076>
- Sera B., Spatenka P., Sery M., Vrchatova N., Hruskova I., 2010. Influence of plasma treatment on wheat and oat germination and early growth. *IEEE Trans. Plasma Sci.* 38(10), 2963–2968. <https://doi.org/10.1109/TPS.2010.2060728>
- Shi X.M., Zhang G.J., Wu X.L., Li Y.X., Ma Y., Shao X.J., 2011. Effect of low-temperature plasma on microorganism inactivation and quality of freshly squeezed orange juice. *IEEE Trans. Plasma Sci.* 39(7), 1591–1597. <https://doi.org/10.1109/TPS.2011.2142012>
- Tappi S., Gozzi G., Vannini L., Berardinelli A., Romani S., Ragni L., Rocculi P., 2016. Cold plasma treatment for fresh-cut melon stabilization. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.* 33, 225–233. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2015.12.022>
- Wang S.Q., Huang G.Q., Li Y.P., Xiao J.X., Zhang Y., Jiang W.L. 2015. Degradation of aflatoxin B1 by low-temperature radio frequency plasma and degradation product elucidation. *Eur. Food Res. Technol.* 241, 103–113. <https://doi.org/10.1007/s00217-015-2439-5>
- Wiktor A., Śledź M., Nowacka M., Witrowa-Rajchert D., 2013. Możliwości zastosowania niskotemperaturowej plazmy w technologii żywności. *Żywn. Nauka Technol. Jakość.* 5(90), 5–14.
- Wolny-Koładka K., Pawłat J., Terebun P., Kwiatkowski M., Diatczyk J., 2017. Ocena możliwości zastosowania plazmy niskotemperaturowej w celu higienizacji zmieszanych odpadów komunalnych służących do produkcji paliwa alternatywnego. *Przeegl. Elektrotech.* 93(11), 209–213.

Emilia Osmólska<sup>1</sup>, Marta Krajewska<sup>1</sup>, Agnieszka Sagan<sup>1</sup>, Beata Zdybel<sup>1</sup>,  
Agnieszka Starek-Wójcicka<sup>1</sup>

## **Chemiczne właściwości tłoczonego na zimno oleju z nasion lnu z dodatkiem suszonych owoców sumaka**

Chemical properties of cold-pressed linseed oil with dried sumac fruit

W ostatnim czasie wzrosło zainteresowanie olejami tłoczonymi na zimno, ponieważ zawierają one znacznie więcej składników bioaktywnych niż oleje rafinowane, a dzięki temu korzystniej wpływają na zdrowie konsumenta. Oleje takie są biologicznie aktywne, gdyż tłoczenie ich odbywa się w niskich temperaturach. W związku z tym nazywane są one również dziewiczymi i zawierają naturalnie występujące składniki [Pala 2001, Obiedzińska i in. 2012, Roszkowska i in. 2014].

Na rynku, oprócz powszechnie stosowanego w gospodarstwach domowych oleju rzepakowego, dostępny jest również olej lniany. Zawiera on w swoim składzie około 74% wielonienasyconych kwasów tłuszczowych, a stosunek kwasów n-3 do n-6 wynosi w przybliżeniu 3,7 [Koski i in. 2002]. Wysokie stężenie kwasu  $\alpha$ -linolenowego sprawia, że olej lniany szczególnie łatwo ulega procesom oksydacyjnym.

Jedną z metod ochrony tego typu produktów jest dodatek naturalnych przeciwutleniaczy – rozmarynu, oregano, kurkumy czy oleożywiec [Krajewska i in. 2017, Krajewska i in. 2018, Starek i in. 2018]. Obiecującym ziołem spowalniającym niepożądane przemiany lipidów może być również *Rhus coriaria* L., powszechnie znany jako sumak, zawierający w swoim składzie taniny, flawonoidy, antocyjany, terpenoidy i diterpen oraz kwas galusowy [Ardalani i in. 2016]. Owocami tej rośliny jest jednonasienny, często owłosiony czerwonobrunatny pestkowiec. Owoce sumaka zawierają jedną pestkę oraz charakteryzują się czerwonym zabarwieniem. Cechują się kwaśnym, cierpkim smakiem i ostrym zapachem. Charakterystyczny smak pochodzi od kwasów cytrynowego oraz jabłkowego, które występują w jego soku. Sumak jest spożywany w postaci wysuszonej i sproszkowanej. Przyprawa ta jest stosowana głównie w Turcji oraz na Bliskim Wschodzie [Asgarpanah i Saati 2014, Moazeni i Mohseni 2012]. *Rhus coraria* został uznany za leczniczy, ponieważ był wykorzystywany w medycynie starożytnej jako zioło antyseptyczne, przeciwbólowe, przeciwzapalne, przeciwwrzodowe i przeciwbakteryjne [Gabr i in. 2014].

Celem tej pracy było określenie wpływu dodatku suszonych owoców sumaka na właściwości chemiczne oleju lnianego tłoczonego na zimno.

---

<sup>1</sup> Wydział Inżynierii Produkcji, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, marta.krajewska@up.lublin.pl

## Material i metody

Material do badań stanowił olej tłoczony na zimno z nasion lnu zwyczajnego (*Linum usitatissimum* L.) odmiany Luna, pochodzącego z przedsiębiorstwa Handlowo-Usługowego „Miłex”, ze zbiorów w 2019 r.

Olej tłoczono w prasie ślimakowej typu DUO firmy Farnet (Czechy) o wydajności 18–25 kg/h, mocy silnika 2,2 kW i obrotach ślimaka 1500 rpm przy użyciu dyszy o średnicy 10 mm. Przed uruchomieniem prasy nagrzano ją do temp. 50°C mierzonej termometrem Ama-digit. Po tłoczeniu oleje zostały odstawione na pięć dni w celu naturalnej sedymentacji osadu. Próbkę przechowywano w ciemnych szklanych butelkach o pojemności 250 ml w temp. 10°C ±1°C.

Wydajność tłoczenia oleju  $W$  obliczano na podstawie masy uzyskanego oleju, masy próbki nasion i oznaczonej procentowej zawartości oleju w nasionach, wykorzystując następujący wzór [Tańska i Rotkiewicz 2003]:

$$W = \frac{m_{ol} \cdot 100 \cdot 100}{Z_{ol} \cdot m_n} [\%]$$

gdzie:

$m_{ol}$  – masa uzyskanego oleju (kg),

$m_n$  – masa przerobionych nasion (kg),

$Z_{ol}$  – zawartość oleju w nasionach (%).

Następnie do badań przygotowano pięć prób oleju lnianego tłoczonego na zimno. Pierwszą próbę stanowił olej bez dodatku przyprawy, do pozostałych czterech dodano sumak w ilości 0,5%; 1,0%; 1,5 i 2,0%. Próby przechowywano w temp. 10°C ±1°C przez dziewięć tygodni.

W nasionach lnu oznaczono wilgotność metodą suszarkową, w temp. 120°C, przy użyciu wagosuszarki firmy Radwag max 50/l/WH [PN-EN ISO 665:2004] oraz zawartość tłuszczu metodą Soxhleta, wykorzystując aparat Soxtec 8000, w oparciu o aplikacje ASN 310 [PN-EN ISO 659:2010].

Natomiast w olejach oznaczono liczbę kwasową i nadtlenkową, w próbie wyjściowej oraz po trzech, sześciu i dziewięciu tygodniach przechowywania. Liczba kwasowa (LK) określa ilość wolnych kwasów tłuszczowych w badanym tłuszczu. Test przeprowadzono metodą miareczkową z użyciem zimnego rozpuszczalnika wg normy PN-EN ISO 660:2010. Liczba nadtlenkowa (LN) określa natomiast ilość pierwotnych produktów utlenienia tłuszczów. Test przeprowadzono metodą miareczkową z jodometrycznym oznaczeniem punktu końcowego [PN-EN ISO 3960:2012].

Stabilność oksydacyjną określano po dwóch i dziewięciu tygodniach przechowywania olejów, wykorzystując test przyspieszonego utleniania Rancimat. Mierzy on czas indukcji przez wykrywanie lotnych kwasów utworzonych w czasie utleniania tłuszczu. Badania prowadzono na aparacie 893 Professional Biodiesel Rancimat firmy Metrohm, w temp. 120°C przy przepływie powietrza 20 l/h [PN-ISO 6886:2009]. Wyniki wyrażono jako czas indukcji, który został automatycznie określony na podstawie punktu przegięcia krzywej z użyciem dostarczonego przez firmę oprogramowania StabNet1.0.

Uzyskane wyniki badań poddano analizie statystycznej, korzystając z pakietu statystycznego Statistica 8.0. W celu zbadania istotności różnic pomiędzy otrzymanymi wartościami oznaczeń dla poszczególnych surowców przeprowadzono analizę wariancji

ANOVA/MANOVA. Wnioskowania dokonano na poziomie istotności 0,05. Szczegółowe analizy średnich przedziałów ufności dokonano przy użyciu testu Tukeya.

## Wyniki i dyskusja

Nasiona lnu zawierały 41,33% tłuszczu, a ich wilgotność wynosiła 6,21%. Podobne wyniki uzyskali w swoich badaniach Mińkowski i in. [2014]. Niższą zawartość tłuszczu w nasionach lnu wykazali Krajewska i in. [2015] (35,5%) oraz Silska i Praczyk [2012] (37,4%).

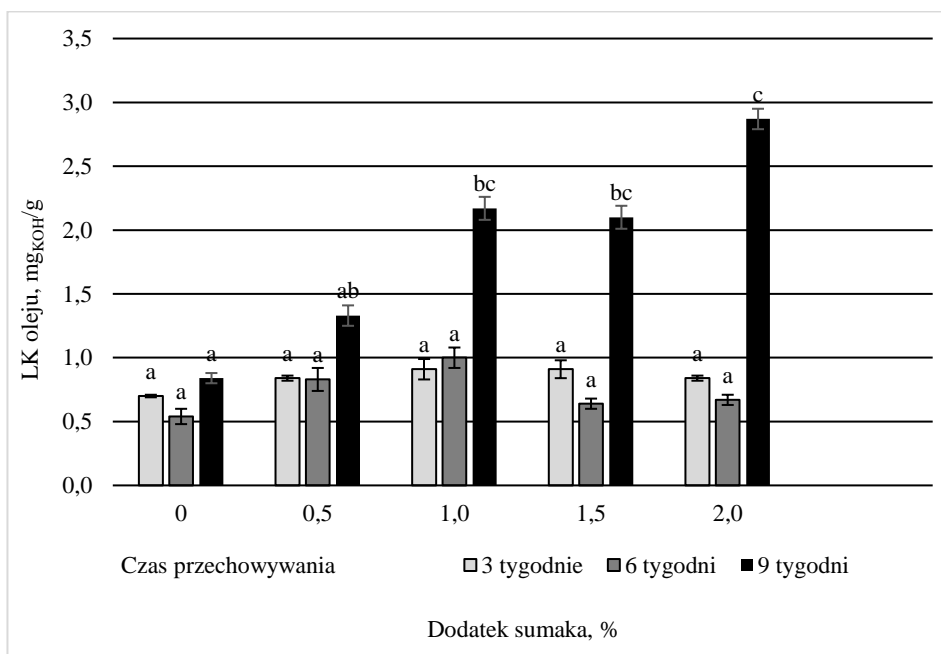
Wydajność tłoczenia oleju wynosiła 82,14%. Otrzymany wynik nie odbiegał od wartości cytowanej przez Mińkowskiego i in. [2014] (dla nasion o wilgotności 6,7% wydajność tłoczenia wyniosła 81,6%), jednak był nieco niższy niż w badaniach Krajewskiej i in. [2015] (92,9%).

Liczba kwasowa kształtowała się na poziomie 0,98 mg KOH/g, zaś LN wynosiła 0,85 mmol O<sub>2</sub>/kg. Oznacza to, że analizowany olej spełniał wymagania jakościowe zawarte w Codex Alimentarius [2009] pod względem tych parametrów (LK ≤ 4 mg KOH/g, LN ≤ 10 mmol O<sub>2</sub>/kg). Wartość liczby kwasowej badanego oleju była zbliżona do otrzymanej przez Popa i in. [2012] (0,80 mg KOH/g), ale niższa w porównaniu z podawaną przez Sielicką i Małecką [2016] (1,35–1,51 mg KOH/g). Wartość liczby nadtlenkowej była nieco niższa od uzyskanej przez Popa i in. [2012] (0,95 mmol O<sub>2</sub>/kg).

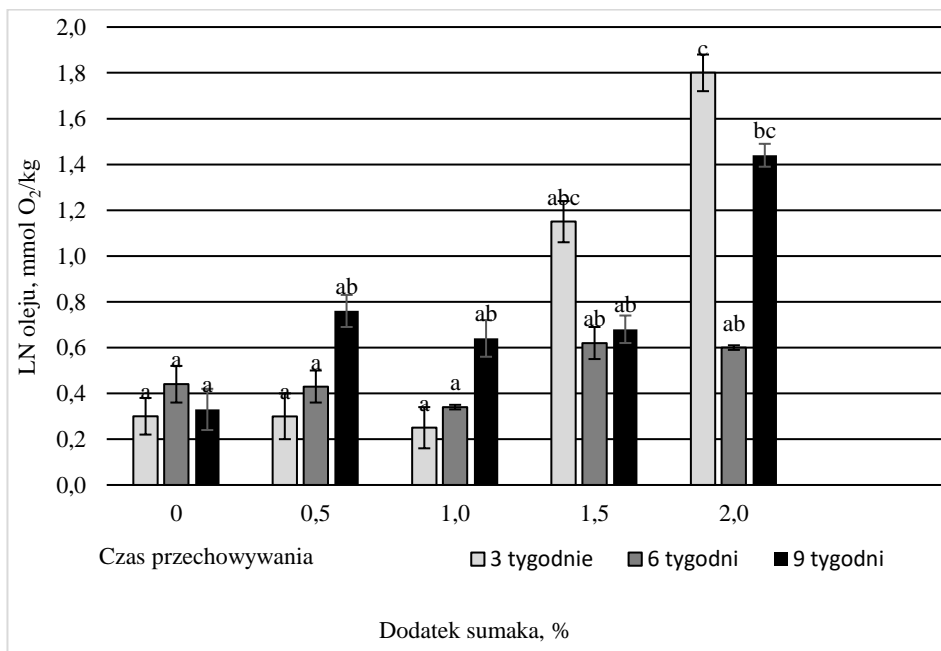
Na rycinach 1–3 przedstawiono zmiany wartości wybranych parametrów chemicznych oleju lnianego z dodatkiem poszczególnych ilości suszonego sumaka.

Analizując wyniki, stwierdzono, że po upływie trzech tygodni przechowywania próbek oleju lnianego nastąpił nieznaczny, statystycznie nieistotny spadek wartości liczby kwasowej we wszystkich badanych olejach w stosunku do próby wyjściowej (ryc. 1). Statystycznie istotny wzrost zawartości wolnych kwasów tłuszczowych zauważono dopiero w próbach z 1-proc., 1,5-proc. i 2-proc. dodatkiem sumaka po dziewięciu tygodniach przechowywania. Wartość LK w tych próbach mieściła się w przedziale od 2,10 mg KOH/g (dla oleju z 1,5-proc. dodatkiem) do 2,87 mg KOH/g (dla oleju z 2-proc. dodatkiem).

Wartości LN analizowanych prób (ryc. 2) wahały się od 0,25 mmol O<sub>2</sub>/kg (dla oleju z 1-proc. dodatkiem sumaka po trzech tygodniach przechowywania) do 1,80 mmol O<sub>2</sub>/kg (dla oleju z 2-proc. udziałem przyprawy po trzech tygodniach przechowywania). Żadna z prób olejów przez cały okres składowania nie przekroczyła dopuszczanej wartości liczby nadtlenkowej określonej przez kodeks [Codex 2009]. Po trzech, sześciu i dziewięciu tygodniach przechowywania dla większości prób zaobserwowano nieznaczny spadek wartości liczby nadtlenkowej w stosunku do próby wyjściowej. W żadnym przypadku nie był on jednak statystycznie istotny. Jedynie w trzech próbach odnotowano wzrost wartości tego parametru. Dla próby oleju lnianego z 2-proc. dodatkiem sumaka po trzech miesiącach przechowywania był on najwyższy. Wartość liczby nadtlenkowej w stosunku do próby wyjściowej wzrosła o 0,95 mmol O<sub>2</sub>/kg. Wpływ dodatku sumaka na wartość liczby nadtlenkowej odnotowano w próbach przechowywanych przez trzy i dziewięć tygodni. W obu przypadkach stwierdzono, że 2-proc. dodatek tej przyprawy istotnie podwyższył wartość tego parametru w stosunku do oleju bez udziału sumaka, odpowiednio o 1,50 i 1,11 mmol O<sub>2</sub>/kg (ryc. 2).



Ryc. 1. Zmiany wartości liczby kwasowej (LK) badanego oleju lnianego

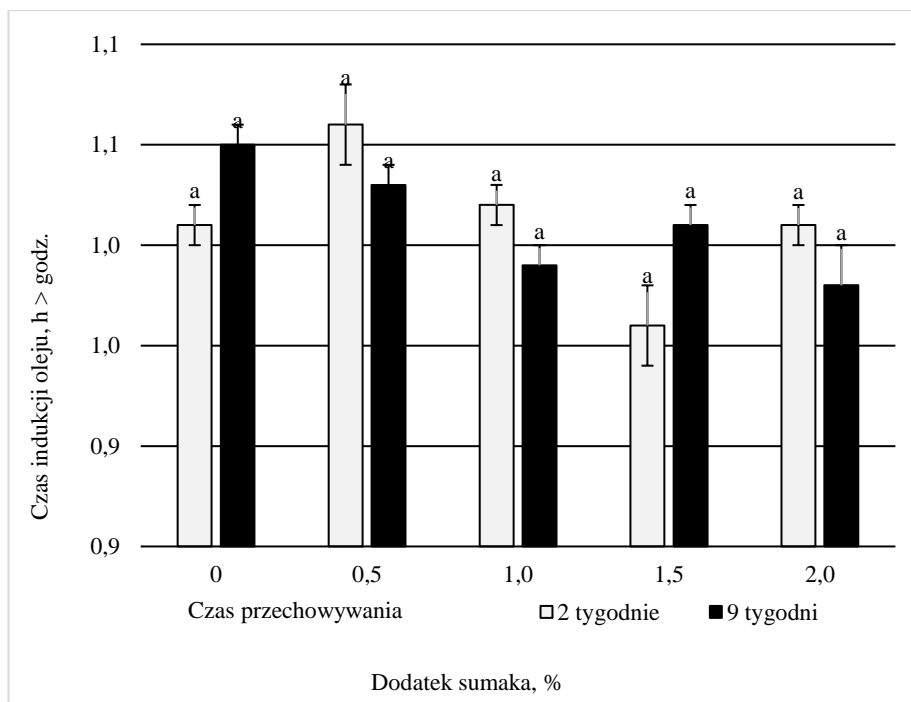


Ryc. 2. Zmiany wartości liczby nadtlenkowej (LN) badanego oleju lnianego

Utlenianie jest główną przyczyną obniżania jakości tłuszczów, powoduje powstawanie nieprzyjemnego zapachu i smaku produktów oraz zmniejsza ich wartość żywieniową. W celu zabezpieczenia olejów przed przemianami wywołanymi procesem utleniania potrzebne są dodatki różnych przeciwutleniaczy. W ostatnich latach coraz większą uwagę poświęca się związkom o właściwościach przeciwutleniających, naturalnie występujących w surowcach roślinnych. Jednym z najważniejszych wskaźników jakości olejów, szczególnie tych tłoczonych w niskich temperaturach, jest stabilność oksydacyjna [Jukić i in. 2005, Zine i in. 2013].

Na rycinie 3 przedstawiono zmiany stabilności oksydacyjnej badanych prób olejów po dwóch i dziewięciu tygodniach przechowywania. Test Rancimat wykazał, że żadna ilość dodatku suszonego sumaka nie wpłynęła na wydłużenie czasu indukcji w stosunku do próby kontrolnej. Otrzymane wartości były bardzo zbliżone i kształtowały się na poziomie od 0,96 godz. dla oleju z 1,5-proc. dodatkiem do 1,06 godz. dla oleju z 0,5-proc. dodatkiem po dwóch tygodniach przechowywania. Podobne wyniki czasu indukcji otrzymali Wroniak i Cenker [2015] (1,07 godz.), badając czysty olej lniany, wysokolienowy.

Analiza statystyczna wykazała brak istotnych różnic w wynikach dotyczących stabilności oksydacyjnej badanych olejów z dodatkiem poszczególnych ilości suszonego sumaka po dwóch i dziewięciu tygodniach przechowywania (ryc. 3).



Ryc. 3. Zmiany wartości czasu indukcji oleju lnianego

## Podsumowanie

Przeprowadzone badania wykazały, że nasiona lnu charakteryzowały się wysoką zawartością tłuszczu (41,33%), a wydajność tłoczenia z nich oleju wynosiła 82,14%. Świeżo tłoczony na zimno olej z tych nasion spełniał normy jakościowe (Codex Alimentarius). Zastosowanie 0,5-proc. dodatku suszonego sumaka do oleju lnianego nie wpłynęło na analizowane właściwości chemiczne oleju. Wzrost wartości liczby kwasowej w olejach z dodatkiem sumaka w ilości 1%, 1,5% i 2% w stosunku do próby bez jego udziału był widoczny po dziewięciu tygodniach przechowywania. Najprawdopodobniej jest to spowodowane ekstrakcją składników o działaniu zakwaszającym z zastosowanej przyprawy. Wpływ suplementacji oleju lnianego sumakiem na wartość liczby nadtlenkowej obserwowano przy zastosowaniu 2-proc. dodatku sumaka po trzech i dziewięciu tygodniach przechowywania. Zastosowany dodatek nie wpłynął na stabilność oksydacyjną oleju lnianego.

## Bibliografia

- Ardalani H., Hassanpour Moghadam M., Hadipanah A., Fotovat F., Azizi A., Soltani J., 2016. Identification and characterization of chemical composition of *Rhus coriaria* L. fruit from Hamadan, Western Iran. *Eur. J. Med. Chem.* 6(4), 195–198.
- Asgarapanah J., Saati S., 2014. An overview on phytochemical and pharmacological properties of *Rhus coriaria* L. *Res. J. Pharmacogn.* 1(3), 47–54.
- Codex Alimentarius, FAO/WHO, 2009. Codex standard for named vegetable oils. Codex – ALINORM 09/32/17.
- Gabr S.A., El-Metwally M.M., Al-Ghadir A.H., 2014. Antioxidant and antibacterial active constituents of *Rhus coriaria*. *Biotechnol.* 13(2), 37–45. <https://doi.org/10.3923/biotech.2014.37.45>
- Jukić M., Miloš M., 2005. Catalytic oxidation and antioxidant properties of thyme essential oils (*Thymus vulgaris* L.). *Croat. Chem. Acta.* 78(1), 105–110.
- Koski A., Psomiadou E., Tsimidou M., Hopia A., Kefalas P., Wähälä K., Heinonen M., 2002. Oxidative stability and minor constituents of virgin olive oil and cold-pressed rapeseed oil. *Eur. Food Res. Technol.* 214, 294–298. <https://doi.org/10.1007/s00217-001-0479-5>
- Krajewska M., Andrejko D., Ślaska-Grzywna B., 2015. Właściwości chemiczne ekologicznych olejów roślinnych tłoczonych na zimno. *Przem. Chem.* 94(10), 1714–1716. <https://doi.org/10.15199/62.2015.10.12>
- Krajewska M., Ślaska-Grzywna B., Szmigielski M., 2017. Wpływ karnozolu oraz kwasów karnozolowego i rozmarynowego na właściwości chemiczne wybranych olejów tłoczonych na zimno. *Przem. Chem.* 96(10), 2060–2064. <https://doi.org/10.15199/62.2017.10.5>
- Krajewska M., Ślaska-Grzywna B., Szmigielski M., 2018. Wpływ dodatku oregano na właściwości chemiczne oleju rzepakowego tłoczonego na zimno. *Przem. Chem.* 97(11), 1953–1956. <https://doi.org/10.15199/62.2018.11.29>
- Mińkowski K., Kalinowski A., Krupska A., 2014. Wpływ sposobu przygotowania nasion oraz dławienia masy nasiennej w prasie ślimakowej na parametry procesu tłoczenia i cechy jakościowe oleju lnianego. *Żywn. Nauka Technol. Jakość* 21(4), 75–87.
- Moazeni M., Mohseni M., 2012. Sumac (*Rhus coriaria* L.): scolicidal activity on hydatid cyst protoscolices. *Surg. Sci.* 3(9), 452–456. <https://doi.org/10.4236/ss.2012.39089>
- Obiedzińska A., Waszkiewicz-Robak B., 2012. Oleje tłoczone na zimno jako żywność funkcjonalna. *Żywn. Nauka Technol. Jakość.* 1(80), 27–44.
- Pala V., Krogh V., Muti P., Chajès V., Riboli E., Micheli A., Berrino F., 2001. Erythrocyte membrane fatty acids and subsequent breast cancer: a prospective Italian study. *J. Nation. Cancer Instit.* 93(14), 1088–1095. <https://doi.org/10.1093/jnci/93.14.1088>

- PN-EN ISO 3960:2012. Oleje i tłuszcze roślinne oraz zwierzęce. Oznaczanie liczby nadtlenkowej. Jodometryczne (wizualne) oznaczanie punktu końcowego.
- PN-EN ISO 659:2010. Nasiona oleiste. Oznaczanie zawartości oleju (Metoda odwoławcza).
- PN-EN ISO 660:2010. Oleje i tłuszcze roślinne oraz zwierzęce. Oznaczanie liczby kwasowej i kwasowości.
- PN-EN ISO 665:2004. Nasiona oleiste. Oznaczanie wilgotności i zawartości substancji lotnych.
- PN-ISO 6886:2009. Oleje i tłuszcze roślinne oraz zwierzęce. Oznaczanie stabilności oksydacyjnej (Test przyspieszonego utleniania).
- Popa V., Gruia A., Raba D., Dumbrava D., Moldovan C., Bordean D., Mateescu C., 2012. Fatty acids composition and oil characteristics of linseed (*Linum Usitatissimum* L.) from Romania. J. Agroaliment. Process Technol. 18(2), 136–140.
- Roszkowska B., Dąbrowska A., Batyk I.M., 2014. Health-promoting properties of selected vegetable oils. J. Health Sci. 4(10), 183–188. <https://doi.org/10.15199/65.2017.6.9>
- Sielicka M., Małecka M., 2016. Znaczenie cech sensorycznych i fizykochemicznych w wyznaczeniu trwałości oleju lnianego tłoczonego na zimno. Żywn. Nauka Technol. Jakość. 1(104), 88–100.
- Silka G., Praczyk M., 2012. Ocena obiektów kolekcyjnych lnu oleistego (*Linum usitatissimum* L.). Oilseed Crops. 33(1), 127–138.
- Starek A., Sagan A., Kiczorowska B., Szmigielski M., Ślaska-Grzywna B., Andrejko D., Kozłowicz K., Blicharz-Kania A., Krajewska M., 2018. Wpływ dodatku oleożywic na właściwości chemiczne oleju rzepakowego tłoczonego na zimno. Przem. Chem. 97(5), 771–773. <https://doi.org/10.15199/62.2018.5.24>
- Tańska M., Rotkiewicz D., 2003. Stopień przemiany lipidów wybranych olejów roślinnych i konsumpcyjnych nasion oleistych. Tłuszcze Jadalne 38(3–4), 147–155.
- Wroniak M., Cenker J., 2015. Porównanie cech sensorycznych, fizyko-chemicznych i stabilności oksydacyjnej wybranych olejów tłoczonych na zimno. Zesz. Probl. Post. Nauk Roln. 581, 123–133.
- Zine S., Gharby S., El Hadek M., 2013. Physicochemical characterization of opuntia ficus-indica seed oil from Morocco. Biosci. Biotechnol. Res. Asia. 10(1), 1–7. <http://dx.doi.org/10.13005/bbra/1099>



Emilia Osmólska<sup>1</sup>, Agnieszka Starek-Wójcicka<sup>1</sup>, Agnieszka Sagan<sup>1</sup>, Marta Krajewska<sup>1</sup>,  
Beata Zdybel<sup>1</sup>

## **Przydatność wybranych odmian owoców do produkcji soków NFC**

Usefulness of selected varieties of fruit for the production of NFC juices

W ostatnim czasie w odpowiedzi na zapotrzebowanie rynku branża sokownicza znacząco poszerzyła swój asortyment. Nastąpił wzrost świadomości konsumentów w zakresie właściwego odżywiania, co spowodowało zwiększenie popytu na soki. Spośród tych produktów na szczególną uwagę zasługują produkty NFC (ang. *not from concentrate*) uzyskiwane poprzez bezpośrednie wyciśnięcie surowych owoców. W czasie produkcji nie dodaje się do tych wyrobów konserwantów, cukru oraz wody, dlatego też tak ważne jest poszukiwanie odpowiednich odmian surowców spełniających wysokie wymagania dotyczące ich przetwarzania [Nadulski i in. 2014, Oszmiański i Rubiński 2016, Szwedziak i in. 2017, Starek i in. 2020].

Jabłka i gruszki są popularne ze względu na swoje wartości odżywcze oraz niską kaloryczność. Średnie jabłko (180 g) zawiera około 90 kcal, 18,2 g węglowodanów, z czego 3,6 g to błonnik. Natomiast średnia gruszka (130 g) to blisko 75 kcal, 16 g węglowodanów (w tym 2,7 g błonnika). W zależności od różnych czynników, np. odmiany, pory roku, warunków uprawy itp., wartości energetyczne i odżywcze mogą być nieco inne. Pomimo różnorodności odmian jabłka i gruszki odznaczają się wysoką zawartością witamin (C, A, K, E, z grupy B) oraz antyoksydantów (katechiny, procyjanidyny, kwas chlorogenowy) [Wolfe i in. 2003, Gerhauser 2008, Azadbakht i Vahedi Torshizi 2020].

Soki przygotowane z tych surowców pije się coraz częściej, ponieważ są łatwym i ogólnodostępnym wyrobem rekomendowanym przez lekarzy i dietetyków, a także Stowarzyszenie Krajowej Unii Producentów Soków, realizującej wiele edycji programów „5 porcji warzyw, owoców lub soku” [Włodarska i in. 2015, Groele i Gutkowska 2016, Płocharski i in. 2017].

Tłoczenie jest powszechnie stosowane w przemyśle owocowo-warzywnym do pozyskiwania tego typu produktów. Na jakość wyrobu końcowego zasadniczy wpływ mają jednak sposób obróbki miazgi i przebieg tłoczenia soku oraz parametry tych procesów. Technologia produkcji soków nieklarowanych obejmuje mycie i sortowanie surowców, rozdrabnianie, tłoczenie, wirowanie bądź dekantację soku surowego oraz pasteryzację i rozlew. Niektóre badania wskazują na negatywny wpływ tych operacji jednostkowych na właściwości fizykochemiczne (w tym prozdrowotne) uzyskiwanych produktów. Należy zatem dążyć do wykorzystywania takich odmian surowców do produkcji soków NFC, które w jak najmniejszym stopniu ulegają tym niekorzystnym zmianom [Xie i in. 2007, Oszmiański i in. 2007, Kalisz 2008, Szwedziak i in. 2017].

---

<sup>1</sup> Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, Wydział Inżynierii Produkcji, marta.krajewska@up.lublin.pl

Celem niniejszej pracy było określenie przydatności wybranych odmian owoców do produkcji soków „nie z koncentratu”.

### **Material i metody**

Materiał doświadczalny stanowiły owoce jabłoni (Ligol, Szampion, Szara Reneta) i gruszy (Abate, Xenia, Konferencja) zakupione na terenie województwa lubelskiego. Badania prowadzono na surowcu zdrowym, bez uszkodzeń mechanicznych. Owoce umyto, a następnie pokrojono na mniejsze części. Sok otrzymano przy użyciu wyciskarki wolnoobrotowej Philips Avance Collection HR1933/20. Następnie przefiltrowano go za pomocą drobnego sita znajdującego się w zestawie urządzenia. Próbę kontrolną (0) stanowił sok świeżo tłoczony, następnie materiał do badań pobierano w pierwszym, czwartym i siódmym dniu.

Kwasowość próbek mierzono za pomocą cyfrowego pehametru – 780 pH Meter firmy Metrohm (Herisau, Szwajcaria) w temp. wynoszącej  $20^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ .

Zawartość ekstraktu badano przy użyciu refraktometru PAL – 1 Atago (Tokio, Japonia), a wyniki z pomiarów przedstawiono w skali Brix.

Zawartość witaminy C (kwasu L-askorbinowego) oznaczano metodą reflektometryczną, wykorzystując to, że kwas askorbinowy redukuje kwas molibdofosforowy do błękitu fosfomolibdenowego. Pomiar przeprowadzono na urządzeniu firmy Merck RQflex 20 (Darmstadt, Niemcy).

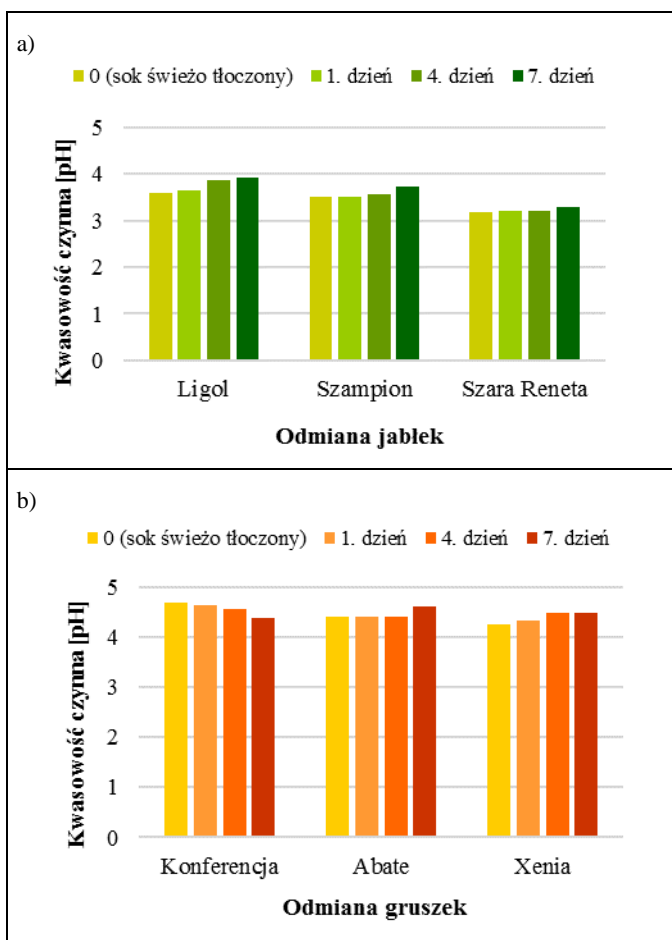
Dodatkowo obliczono zakres przydatności soków jabłkowych i gruszkowych w realizacji średniego zalecanego dziennego zapotrzebowania (EAR – *estimated average requirements*) na witaminę C dla dzieci i dorosłych (kobiet i mężczyzn) zgodnie z metodyką wskazaną przez Jarosza i Bułhak-Jachymczyk [2008].

Uzyskane wyniki badań poddano analizie statystycznej, korzystając z pakietu statystycznego Microsoft Excel i Statistica 8.0. W celu zbadania istotności różnic pomiędzy sokami przygotowanymi z różnych odmian jabłek i gruszek przeprowadzono jednoczynnikową analizę wariancji ANOVA. Wnioskowania dokonano na poziomie istotności 0,05, a szczegółowe analizy średnich przedziałów ufności – przy użyciu testu Tukeya. Tę samą analizę wykorzystano do zbadania wpływu czasu przechowywania wyrobów na wybrane wyznaczniki jakości soków.

### **Wyniki i dyskusja**

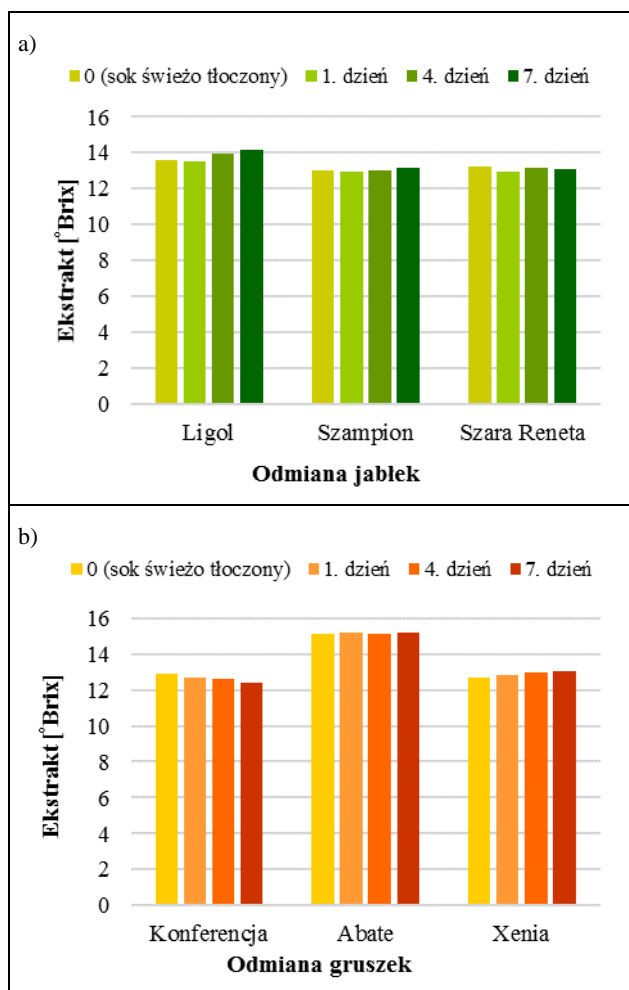
Na rycinach 1–3 oraz w tabelach 1 i 2 zaprezentowano wyniki badań wybranych parametrów fizykochemicznych wpływających na ogólną jakość soków otrzymanych z różnych odmian jabłek i gruszek.

Zasadniczy wpływ na trwałość soków owocowych oraz na ich wartość odżywczą ma kwasowość czynna (pH). Obserwacje zmian tego parametru mogą dostarczyć informacji o świeżości produktu lub szybkości zachodzących w nim niepożądanych procesów.



Ryc. 1. Zmiany kwasowości czynnej soków przygotowanych z różnych odmian jabłek (a) i gruszek (b) w czasie przechowywania

Otrzymane wyroby różniły się pod względem kwasowości. W przypadku świeżego soku jabłkowego (próba kontrolna) otrzymanego z odmiany Ligol pH kwasowości wynosiła 3,60, zaś z odmiany Szara Reneta – 3,19. Czas przechowywania spowodował nieznaczny wzrost tej cechy w przypadku wszystkich badanych próbek. Przykładowo dla odmiany Szampion w całym okresie przechowywania (1–7 dni) pH zawierała się w przedziale od 3,52 do 3,72 (ryc. 1a i tab. 1). Spośród badanych wyrobów przygotowanych z gruszek najniższą kwasowością charakteryzował się sok z odmiany Konferencja. Jego pH zaraz po wytłoczeniu (próba kontrolna) wynosiła 4,69. Jednak po siedmiu dniach chłodniczego przechowywania wartość ta spadła do 4,38. Natomiast świeżo tłoczony sok z owoców gruszy odmiany Xenia początkowo odznaczał się pH wynoszącą 4,56. Po siedmiu dniach nastąpił wzrost tej cechy o około 5%. Zastosowany test statystyczny potwierdził te zmiany (ryc. 1b i tab. 2).

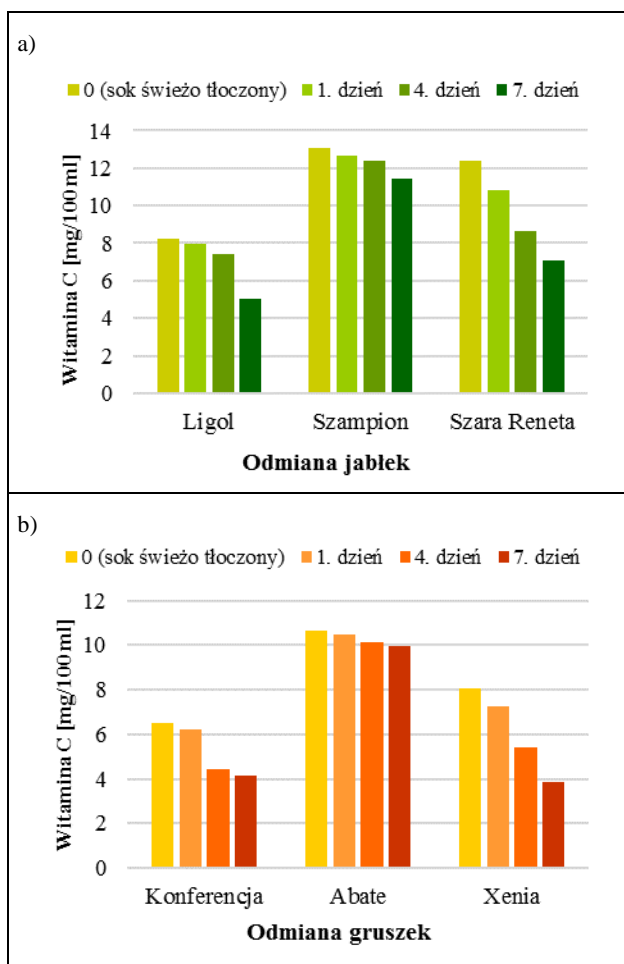


Ryc. 2. Zmiany zawartości ekstraktu w sokach przygotowanych z różnych odmian jabłek (a) i gruszek (b) w czasie przechowywania

Nadulski [2009], badając wpływ parametrów procesu zagęszczania na wybrane parametry jakościowe soku, nie stwierdził istotnych statystycznie zmian w kwasowości koncentratu w zależności od czasu i temperatury obróbki soku z jabłek odmiany Idared. Kwasowość czynna koncentratu zawierała się w przedziale od 3,5 do 3,7. Natomiast analizy przeprowadzone przez Kondratowicz-Pietruszkę [2010] wskazują na to, że dynamika wzrostu kwasowości przechowywanych próbek soków buraczanych (odmian Czerwona Kula i Opolski) z dodatkiem cukru i soli, poddawanych procesowi samoistnej fermentacji była zależna od odmiany warzywa i sposobu jego przetwarzania. W przypadku wszystkich próbek podczas fermentacji wartości pH spadały, co wskazywało na wzrost kwasowości. Na podstawie analizy wszystkich parametrów jakościowych soków stwierdzono,

że odmiana Czerwona Kula była lepszym surowcem do otrzymywania tego typu produktów niż odmiana Opolski.

Ocena zawartości ekstraktu również jest ważnym wskaźnikiem do określania przydatności wybranych odmian owoców do produkcji soków.



Ryc. 3. Zmiany zawartości witaminy C w sokach przygotowanych z różnych odmian jabłek (a) i gruszek (b) w czasie przechowywania

Zawartość ekstraktu w analizowanych sokach jabłkowych zaraz po wytłoczeniu zawierała się w przedziale od 13,05°Brix do 13,6°Brix. Natomiast w świeżym soku z gruszek odmiany Konferencja, Abate i Xenia średnia wartość ekstraktu wynosiła odpowiednio: 12,90; 15,15 i 12,7°Brix. Test statystyczny Tukeya (w niektórych przypadkach) wykazał, że zarówno odmiana owoców, jak i czas przechowywania wyrobów były czynnikami różnicującym ten parametr (ryc. 2a i b; tab. 1 i 2). Wilczyński i in. [2015] podają,

że zawartość ekstraktu w sokach jabłkowych otrzymanych z dwóch odmian (Idared i Golden Delicious) oraz po różnych rodzajach obróbki wstępnej zawierała się w przedziale od 9,5 do 14,1°Bx. Najwyższą zawartość ekstraktu wykazywał sok przygotowany wyłącznie poprzez rozdrobnienie owoców, które następnie poddano tłoczeniu z owoców odmiany Idared. Zaś najniższą wartość parametru otrzymano w przypadku odmiany Golden Delicious, gdzie miążga po bezpośrednim rozdrobnieniu była dodatkowo poddana działaniu preparatu enzymatycznego.

Świeże owoce oraz przygotowywane z nich soki są doskonałym źródłem witaminy C w diecie. Witamina C jest związkami nietrwałymi, jednak odpowiedni czas i warunki przechowywania produktów zawierających tę substancję zapobiegają jej utlenianiu [Nowak i in. 2018, Starek i in. 2020].

Maksymalną zawartość witaminy C oznaczono w soku otrzymanym z jabłek odmiany Szampion – 13,1 mg/100 ml. Niewiele mniejszą zawartością tego związku odznaczał się sok wytłoczony z owoców Szara Reneta (12,4 mg/100 ml). Wyrób otrzymany z jabłek odmiany Ligol posiadał tylko 8,25 mg/100 ml tego biologicznie aktywnego składnika. Czas przechowywania wpłynął negatywnie na zawartość tego związku. W przypadku soku z odmiany Szara Reneta przechowywanego przez siedem dni w warunkach chłodniczych nastąpił ubytek witaminy C aż o 43% w porównaniu z produktem świeżo tłoczonym (próbą kontrolna). Najmniejszy spadek zawartości witaminy C nastąpił w przypadku soku uzyskanego z odmiany Szampion – 13% (ryc. 3a i tab. 1).

Tabela. 1. Wyniki analizy statystycznej dotyczące badanych wartości fizykochemicznych w sokach z trzech odmian jabłek przechowywanych przez siedem dni

Wartości fizykochem.	Dzień przechowywania	Ligol	Szampion	Szara Reneta
Kwasowość czynna [pH]	0 (sok świeżo tłoczony)	3,61 <sup>Ba</sup>	3,52 <sup>Ba</sup>	3,19 <sup>Aa</sup>
	1. dzień	3,65 <sup>Bab</sup>	3,51 <sup>Ba</sup>	3,20 <sup>Aa</sup>
	4. dzień	3,86 <sup>Cbc</sup>	3,56 <sup>Ba</sup>	3,22 <sup>Aa</sup>
	7. dzień	3,93 <sup>Cc</sup>	3,72 <sup>Bb</sup>	3,28 <sup>Aa</sup>
Ekstrakt [°Brix]	0 (sok świeżo tłoczony)	13,60 <sup>Cab</sup>	13,05 <sup>Aa</sup>	13,25 <sup>ABa</sup>
	1. dzień	13,55 <sup>Aa</sup>	12,95 <sup>Aa</sup>	12,95 <sup>Aa</sup>
	4. dzień	13,95 <sup>Bab</sup>	13,05 <sup>Aa</sup>	13,15 <sup>Aa</sup>
	7. dzień	14,15 <sup>Bb</sup>	13,15 <sup>Aa</sup>	13,10 <sup>Aa</sup>
Witamina C [mg/100 ml]	0 (sok świeżo tłoczony)	8,25 <sup>Ad</sup>	13,10 <sup>Cb</sup>	12,40 <sup>Bd</sup>
	1. dzień	7,95 <sup>Ac</sup>	12,65 <sup>Cb</sup>	10,85 <sup>Bc</sup>
	4. dzień	7,45 <sup>Ab</sup>	12,40 <sup>Cb</sup>	8,65 <sup>Bb</sup>
	7. dzień	5,05 <sup>Aa</sup>	11,45 <sup>Ca</sup>	7,05 <sup>Ba</sup>

Wyniki wyrażono jako średnią.

Duże litery oznaczają statystycznie istotne różnice pomiędzy sokami z innej odmiany jabłek w danym dniu przechowywania (zamieszczone w każdym oddzielnym wierszu).

Małe litery oznaczają statystycznie istotne różnice w czasie przechowywania soków (dla każdej odmiany oddzielnie w kolumnach).

Tabela 2. Wyniki analizy statystycznej dotyczące badanych wartości fizykochemicznych w sokach z trzech odmian gruszek przechowywanych przez siedem dni

Wartości fizykochem.	Dzień przechowywania	Konferencja	Abate	Xenia
Kwasowość czynna [pH]	0 (sok świeżo tłoczony)	4,69 <sup>Cc</sup>	4,40 <sup>Ba</sup>	4,26 <sup>Aa</sup>
	1. dzień	4,63 <sup>Cc</sup>	4,40 <sup>Ba</sup>	4,34 <sup>Ab</sup>
	4. dzień	4,56 <sup>Ab</sup>	4,41 <sup>Aa</sup>	4,47 <sup>Ac</sup>
	7. dzień	4,38 <sup>Aa</sup>	4,62 <sup>Ca</sup>	4,48 <sup>Bc</sup>
Ekstrakt [°Brix]	0 (sok świeżo tłoczony)	12,90 <sup>Ab</sup>	15,15 <sup>Ba</sup>	12,70 <sup>Ab</sup>
	1. dzień	12,70 <sup>Aab</sup>	15,20 <sup>Ba</sup>	12,85 <sup>Aab</sup>
	4. dzień	12,65 <sup>Aab</sup>	15,10 <sup>Ba</sup>	12,95 <sup>Aa</sup>
	7. dzień	12,40 <sup>Aa</sup>	15,20 <sup>Ca</sup>	13,05 <sup>Ba</sup>
Witamina C [mg/100 ml]	0 (sok świeżo tłoczony)	4,15 <sup>Aa</sup>	10,65 <sup>Cc</sup>	8,05 <sup>Bd</sup>
	1. dzień	4,45 <sup>Aa</sup>	10,45 <sup>Cbc</sup>	7,25 <sup>Bc</sup>
	4. dzień	6,20 <sup>Bb</sup>	10,15 <sup>Ca</sup>	5,40 <sup>Ab</sup>
	7. dzień	6,50 <sup>Bb</sup>	9,95 <sup>Ca</sup>	3,85 <sup>Aa</sup>

Wyniki wyrażono jako średnią.

Duże litery oznaczają statystycznie istotne różnice pomiędzy sokami z innej odmiany jabłek w danym dniu przechowywania (zamieszczone w każdym oddzielnym wierszu).

Małe litery oznaczają statystycznie istotne różnice w czasie przechowywania soków (dla każdej odmiany oddzielnie w kolumnach).

Świeży sok z gruszek odmiany Abate okazał się najbogatszym źródłem witaminy C – 10,65 mg/100 ml, natomiast najniższą zawartość tego związku oznaczono w soku z owoców odmiany Konferencja – 6,5 mg/100 ml. Również w przypadku soków gruszkowych czas przechowywania wpłynął na obniżenie wartości badanej cechy, jednak produktem najmniej podatnym na utlenianie okazał się sok wytłoczony w gruszek odmiany Abate (ok. 7%). Generalnie zastosowany test statystyczny potwierdził, że soki przygotowane z różnych odmian jabłek i gruszek różnią się pomiędzy sobą zawartością tego dobroczynnego związku (ryc. 3b i tab. 2). W przeprowadzonym przez Jabłońską-Ryś [2014] doświadczeniu największą zawartość kwasu askorbinowego (14,5 mg/100 g) stwierdzono w próbkach miąższu jabłek Szampion, zaś najmniejszą w próbkach odmian Boskoop i Lobo, odpowiednio: 6,0 i 6,5 mg/100 g. Planchon i in. [2004] podają, że w zależności od odmiany owoce te mogą zawierać 8,7 mg do 24 mg kwasu askorbinowego w 100 g, przy czym ilości te maleją w trakcie przechowywania nawet pięciokrotnie [Felicetti i in. 2010].

W tabeli 3 przedstawiono dane dotyczące stopnia realizacji norm EAR dla dzieci i osób dorosłych na witaminę C badanych soków. Wykazano, że porcja soku jabłkowego z odmiany Szampion (100 ml) dostarczała najwięcej witaminy C, kolejno: 22%, 17% oraz 31–26% dziennego zapotrzebowania na kwas askorbinowy dla kobiet, mężczyzn oraz dzieci. Natomiast najmniej witaminy C dostarczył sok jabłkowy z odmiany Ligoł. Sok świeżo tłoczony przygotowany z gruszek odmiany Abate (100 ml) w największym stopniu wypełniał dzienne zapotrzebowanie na witaminę C: dla dzieci – w 26–21%, dla kobiet

– w 18% i dla mężczyzn – w 14%. Najmniejsze ilości tej witaminy znajdowały się w produkcie przygotowanym z gruszek odmiany Konferencja.

Tabela 3. Realizacja norm średniego zalecanego dziennego zapotrzebowania dla soków przygotowanych z różnych odmian jabłek i gruszek w świeżo tłoczonym produkcie i przechowywanym przez siedem dni

Rodzaj przetworu	Realizacja norm EAR* [%/100 ml]	Realizacja norm EAR** [%/100 ml]
	0/7 dzień przechowywania	0/7 dzień przechowywania
Świeżo tłoczony sok z jabłek odmiany Ligol	14/8 – K 11/7 – M	21 – 17/13 – 10
Świeżo tłoczony sok z jabłek odmiany Szampion	22/19 – K 17/15 – M	31 – 26/29 – 23
Świeżo tłoczony sok z jabłek odmiany Szara Reneta	21/12 – K 17/9 – M	31 – 25/18 – 14
Świeżo tłoczony sok z gruszek odmiany Konferencja	11/7 – K 8,6/6 – M	16 – 13/10 – 8
Świeżo tłoczony sok z gruszek odmiany Abate	18/17 – K 14/13 – M	26 – 21/25 – 20
Świeżo tłoczony sok z gruszek odmiany Xenia	14/6 – K 11/5 – M	20 – 16/10 – 8

\* – EAR dla dorosłych >19. roku życia [kobiety (K) – 60 mg/dobę, mężczyźni (M) – 75 mg/dobę]

\*\* – EAR dla dzieci w wieku 1–9 lat (40–50 mg/dobę)

EAR (*estimated average requirements*) – średnie zalecane dzienne zapotrzebowanie

Wskaźnik EAR po siedmiu dniach miał tendencję spadkową dla przetworów z jabłek i gruszek. Pomimo tego trendu największe średnie zapotrzebowanie dla poszczególnych grup wiekowych pokrywał świeżo tłoczony sok z jabłek odmiany Szampion. Średnie zalecane dzienne zapotrzebowanie dla osób dorosłych w przypadku soku z jabłek odmiany Szampion wynosiło dla kobiet 19%, dla mężczyzn – 15%, a dla dzieci – od 29 do 23%. Najniższy poziom EAR był widoczny w soku z jabłek Ligol. Jeśli chodzi o sok tłoczony z gruszek, to ten z odmiany Abate posiadał najwyższe wartości tego wskaźnika. Średnie pokrycie dziennego zapotrzebowania dla kobiet kształtowało się na poziomie 17%, dla mężczyzn 13%, a dla dzieci było to 25–20%. Najniższe EAR przypadło sokowi z gruszek odmiany Konferencja.

### Podsumowanie

Przeprowadzone badania wykazały, że odmiana jabłek Szampion cechowała się najlepszą przydatnością do przetwórstwa. Sok otrzymany z tych owoców charakteryzował się największym stężeniem witaminy C, która tylko w niewielkim stopniu obniżyła



się po siedmiu dniach przechowywania (13%). Czas przechowywania wpłynął negatywnie na zawartość tej substancji w przypadku soku przygotowanego z odmiany Szara Reneta (43%). Wśród gruszek odmiana Abate okazała się najbardziej odpowiednim owocem do przerobu na sok NFC, który zaraz po wytłoczeniu zawierał 10,65 mg/100 ml kwasu askorbinowego. Natomiast najmniej tego związku oznaczono w soku z owoców odmiany Konferencja (średnia wartość parametru wynosiła 6,50 mg/100 ml). Po przechowywaniu w warunkach chłodniczych przez siedem dni w badanych wyrobach zanotowano spadek zawartości witaminy C, odpowiednio o 7% i 36%.

Soki z jabłek odmiany Szampion i gruszek odmiany Abate (100 ml) w największym stopniu wypełniały dzienne zapotrzebowanie na witaminę C.

Badane próbki soku jabłkowego i gruszkowego, przygotowane z różnych odmian owoców, różniły się pomiędzy sobą zawartością ekstraktu. Czas przechowywania (w większości przypadków) nie był czynnikiem różnicującym ten parametr.

Zanotowano najwyższą wartość pH dla soku z odmiany Ligol i najniższą w przypadku wyrobu z odmiany Szara Reneta. Kwasowość czynna nieznacznie spadła podczas przechowywania we wszystkich badanych próbkach wyrobów z jabłek.

Świeżo tłoczony sok przygotowany z gruszek odmiany Konferencja charakteryzował się najwyższą wartością pH – 4,69, zaś najniższą, wynoszącą 4,26, zaobserwowano w soku z odmiany Xenia. W większości przypadków czas przechowywania wyrobów wpłynął na wartość kwasowości czynnej. Zastosowany test statystyczny potwierdził te zmiany.

## Bibliografia

- Azadbakht M., Vahedi Torshizi M., 2020. The antioxidant activity components change of pears subject to static and dynamic loads. *Int. J. Fruit Sci.* 20 (supl. 2), 1255–1275. <https://doi.org/10.1080/15538362.2020.1718053>
- Felicetti E., Mattheis J.P., 2010. Quantification and histochemical localization of ascorbic acid in 'Delicious', 'Golden Delicious' and 'Fuji' apple fruit during on-tree development and cold storage. *Postharv. Biol. Technol.* 56(1), 56–63. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2009.12.002>
- Gerhauser C., 2008. Cancer chemopreventive potential of apples, apple juice, and apple components. *Plant. Med.* 74(13), 1–17. <https://doi.org/10.1055/s-0028-1088300>
- Groele B., Gutkowska K., 2016. Wpływ kampanii „5 porcji warzyw, owoców lub soku” na świadomość konsumenta. *Przem. Spoż.* 70(10), 50–53.
- Jabłońska-Ryś E., Gustaw W., Latoch A., 2014. Ocena przydatności technologicznej wybranych odmian jabłek pod względem potencjału brązowienia. *Żywn. Nauka Technol. Jakość.* 21(1), 114–123. <https://doi.org/10.15193/zntj/2014/92/114-123>
- Jarosz M., Bułhak-Jachymczyk B., 2008. Normy żywienia człowieka. Podstawy prewencji otyłości i chorób niezakaźnych. Warszawa, PZWL.
- Kalisz S., 2008. Wpływ sposobu otrzymywania soków truskawkowych na zawartość antocyjanów i barwę. *Żywn. Nauka Technol. Jakość.* 15(5), 149–160.
- Kondratowicz-Pietruszka E., 2010. Dynamika wzrostu kwasowości fermentowanych soków warzywnych. *Zesz. Nauk. Uniw. Ekonom. Kraków.* 833, 73–86.
- Nadulski R., 2009. Wpływ parametrów procesu zagęszczania na jakość koncentratu soku jabłkowego. *Inż. Roln.* 13(2), 117–122.
- Nadulski R., Kobus Z., Guz T., Strzałkowska K., Kosik D., 2014. Przydatności wybranych odmian jabłek do tłoczenia w warunkach gospodarskich. *Agric. Engin.* 18(1), 147–154.

- Nowak D., Gośliński M., Wojtowicz E., Przygoński K., 2018. Antioxidant properties and phenolic compounds of vitamin C rich juices. *J. Food Sci.* 83(8), 2237–2246. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.14284>
- Oszmiański J., Rubiński P., 2016. Optymalizacja produkcji soków NFC z uwzględnieniem wartości odżywczych. *Przem. Ferment. Owoc. Warz.* 7(60), 7–8.
- Oszmiański J., Wojdyło A., Matuszewski P., 2007. Zmiany zawartości związków fenolowych podczas produkcji zagęszczonego soku truskawkowego w warunkach przemysłowych. *Żywn. Nauka Technol. Jakość* 14(1), 94–104.
- Planchon V., Lateur M., Dupont P., Lognay G., 2004. Ascorbic acid level of Belgian apple genetic resources. *Sci. Hort.* 100(1–4), 51–61. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2003.08.003>
- Płocharski W., Markowski J., Groele B., Stos K., Koziół-Kozakowska A., 2017. Soki, nektary, napoje – aspekty rynkowe i zdrowotne. *Przem. Ferment. Owoc. Warzyw.* 61(04), 369–382.
- Starek A., Sagan A., Andrejko D., Chudzik B., Kobus Z., Kwiatkowski M., Pawłat J., 2020. Possibility to extend the shelf life of NFC tomato juice using cold atmospheric pressure plasma. *Sci. Rep.* 10(1), 1–13. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-77977-0>
- Szwedziak K., Polańczyk E., Dąbrowska-Molenda M., Kamińska A., 2017. Technologia i tłoczenie soków owocowych w kontekście oceny jakości. *Postęp. Tech. Przetw. Spoż.* 1, 71–76.
- Wilczyński K., Kobus Z., Nadulski R., 2015. Wpływ wstępnej obróbki miazgi jabłek na właściwości reologiczne i ekstrakt otrzymanych soków. *Acta Sci. Pol. Technica Agraria* 14(3–4), 33–40.
- Włodarska K., Pawlak-Lemanska K., Górecki T., Sikorska E., 2015. Motywy wyboru żywności przez konsumentów soków – badania pilotażowe. *J. Agribus. Rural Dev.* 4(38), 6–10.
- Wolfe K., Wu X., Liu R.H., 2003. Antioxidant activity of apple peels. *J. Agric. Food Chem.* 51(3), 609–614. <https://doi.org/10.1021/jf020782a>
- Xie D., Zhong H., Mo J., Li Z., Cui T., Yi C., 2007. Nutritional and medicinal quality of pear juice: next hotspot? *Food.* 1(1), 41–48.

Dominika Polesiak<sup>1</sup>, Jowita Kwiatkowska<sup>1</sup>, Aneta Krawiec<sup>1</sup>, Katarzyna Zdrzałek<sup>1</sup>,  
Paweł Żółkiewski<sup>1</sup>, Piotr Domaradzki<sup>1</sup>, Piotr Stanek<sup>1</sup>, Marek Kowalczyk<sup>1</sup>,  
Małgorzata Dmoch<sup>1</sup>, Monika Kędzierska-Matyssek<sup>1</sup>, Justyna Zdyb-Domaradzka<sup>2</sup>,  
Agnieszka Żelazna<sup>1</sup>, Kamila Steciuk<sup>1</sup>

## Ocena jakości masła dostępnego na rynku lubelskim

Assessment of the quality of butter available on the Lublin market

Masło jest zaliczane do podstawowych i najlepiej przyswajalnych źródeł tłuszczu zwierzęcego w diecie człowieka. Doceniane jest nie tylko ze względu na wszechstronne możliwości jego wykorzystania, ale również z uwagi na zawarte w nim cenne składniki odżywcze, zwłaszcza krótko- i średniołańcuchowe kwasy tłuszczowe oraz rozpuszczalne w tłuszczach witaminy [Cichosz i Czeczot 2011a, Spiel i Bulak 2016]. Masło to wysoko-tłuszczowa emulsja typu woda w oleju otrzymywanym wyłącznie z mleka w wyniku zmaślenia śmietanki pasteryzowanej nieukwaszonej lub ukwaszonej (śmietany), zawierająca co najmniej 25–35% tłuszczu [Górska 2008, Ziarno i Zaręba 2008b]. Zgodnie z definicją masło powinno zawierać nie mniej niż 80% i nie więcej niż 90% tłuszczu mlecznego oraz nie więcej niż 16% wody i maksymalnie 2% suchej masy beztłuszczowej. Przy innych zawartościach tłuszczu mlecznego produkty można nazywać: masłem o zawartości trzech czwartych tłuszczu (nie mniej niż 60% i nie więcej niż 62%), masłem półtłustym (nie mniej niż 39% i nie więcej niż 41%) oraz tłuszczem mlecznym do smarowania z podaną zawartością tłuszczu, tj. poniżej 39%; powyżej 41%, ale poniżej 60%; powyżej 62%, ale poniżej 80% [Rozporządzenie nr 1308/2013].

Zasadniczo jakość należy rozumieć jako zespół atrybutów, którymi powinien charakteryzować się dany produkt, by mógł spełniać oczekiwania konsumentów. Postrzeganie jakości żywności obejmuje wiele aspektów odnoszących się m.in. do cech sensorycznych, zdrowotnych, wygody przygotowania do spożycia czy sposobu i terminu przechowywania. Jakość masła coraz częściej jest wskazywana przez konsumentów jako ważny czynnik warunkujący ich decyzje nabywcze [Czechowska-Liszka 2005, Spiel i Bulak 2016].

### Wartość odżywcza masła

Jakkolwiek masło będące produktem otrzymywanym wyłącznie z mleka zawiera te same składniki, to ich proporcje są całkiem odmienne. W procesie produkcji masła dochodzi do ponad 20-krotnej koncentracji tłuszczu i rozpuszczonych w nim składników (np. witaminy A, D, E) w porównaniu z wyjściową ich zawartością w mleku. Masło jest postrzegane jako najszlachetniejszy, łatwo przyswajalny tłuszcz zwierzęcy [Spiel i Bulak

---

<sup>1</sup> Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, Wydział Nauk o Zwierzętach i Biogospodarki, pawel.zolkiewski@up.lublin.pl

<sup>2</sup> Wojewódzka Stacja Sanitarno-Epidemiologiczna w Lublinie

2016]. Jego wysoka strawność, wynosząca 97–98%, wiąże się ze znacznym rozproszeniem kuleczek tłuszczowych oraz z niską temperaturą topnienia [Marszałkowska-Jakubczyk 2011]. Z tego względu spożywanie masła zalecane jest dzieciom, rekonwalescentom, osobom borykającym się z problemami ze strony przewodu pokarmowego, a także korzystającym z diety niskokalorycznej oraz łatwostrawnej [Górska 2014].

Tłuszcz mlekowy, ze względu na złożony profil kwasów tłuszczowych (KT), zaliczany jest do najbardziej złożonych tłuszczów jadalnych [Spiel i Bulak 2016]. W jego skład wchodzi ponad 400 KT, przy czym tylko 15 z nich występuje w ilości powyżej 1%. Dominujący udział wykazują kwasy tłuszczowe nasycone (60–65%), w tym jedną czwartą stanowią kwasy krótko- i średniołańcuchowe (C4:0–C12:0), które zasadniczo nie występują w żadnym innym tłuszczu. W organizmie ludzkim kwasy te wykazują właściwości przeciwbakteryjne oraz przeciwgrzybicze. Mają zdolność wnikania w otoczkę lipidową bakterii chorobotwórczych, otoczka w kontakcie z wodą ulega rozerwaniu, w czego konsekwencji następuje całkowita dezintegracja patogenów. Najlepszymi właściwościami przeciwdrobnoustrojowymi odznacza się kwas laurynowy (C12:0), występujący również w mleku kobiecym. Z kolei kwas oleinowy omega-9 (C18:1c9) jest głównym przedstawicielem kwasów tłuszczowych jednonienasyconych, których procentowy udział w tłuszczu mlekowym wynosi do 35%. W tłuszczu tym obecne są również należące do izomerów KT o konfiguracji *trans*, skoniugowany kwas linolowy (CLA – *conjugated linolic acid*) oraz kwas wakcenyowy (C18:1t11), wykazujące działanie przeciwniażdżycowe i antynowotworowe. Ich przeciętny udział waha się przedziale 2–7% [Cichosz 2013, Rutkowska i in. 2015].

Skład kwasów tłuszczowych masła jest tak specyficzny, że ułatwia jego identyfikację i potencjalne wykrycie zafałszowań innymi tłuszczami. Charakterystycznymi kwasami występującymi w tłuszczu mlecznym są: mirystynowy, wakcenyowy, linolowy oraz masłowy (2,9–3,4% wszystkich kwasów tłuszczowych), który w innych tłuszczach nie występuje, dlatego jego mniejsza zawartość może świadczyć o zafałszowaniu masła innymi tłuszczami. Z kolei nadmiar kwasu masłowego świadczy o nieświeżości produktu, ale jego ilość zależy również od pory roku – w zimie jest go więcej niż latem [Ziarno i Zaręba 2008a].

Na właściwości fizykochemiczne tłuszczu mlekowego wpływa stosunek nasyconych i nienasyconych kwasów tłuszczowych. Ilość nienasyconych KT stanowi o teksturze masła, tzn. im jest ich więcej, tym bardziej miękkie staje się masło. Natomiast ilość wolnych kwasów tłuszczowych (WKT) świadczy o jego świeżości. Dopuszczalny poziom WKT w świeżym maśle wynosi 1–1,5 mg KOH/100 g tłuszczu. Tłuszcz mlekowy może ulegać utlenianiu, co skutkuje tworzeniem się aldehydów o nieprzyjemnym zapachu. Proces ten jest ograniczony obecnością witamin o działaniu antyoksydacyjnym, jednak duża zawartość WKT może przyspieszyć proces utleniania. Przemiany o charakterze oksydacyjnym powodują pogorszenie właściwości smakowo-zapachowych masła, co negatywnie wpływa na jego stabilność przechowalniczą [Cichosz i Czczot 2011b, Baranowska i in. 2017].

Masło jest również cennym źródłem dobrze przyswajalnych witamin A i E (w formie  $\alpha$ -tokoferolu) oraz D, które pełnią funkcję antyoksydacyjną podobnie jak koenzym Q<sub>10</sub> czy fosfolipidy [Żywica i in. 2012, Spiel i Bulak 2016]. Odpowiadają one nie tylko za prawidłową kondycję skóry, włosów czy paznokci, ale działają również neutralizująco na wolne rodniki. Ponadto obecna w maśle witamina D ma właściwości przeciwzapalne, dzięki czemu wzmacnia odporność [Kołóżyn-Krajewska i Sikora 2004].

Kolejną zaletą masła jest występowanie w nim bakterii kwasu mlekowego, które korzystnie wpływają na pracę jelit, wytwarzają substancje pobudzające ich ruchy i zatrzymujące rozwój oraz wzrost chorobotwórczych bakterii gnilnych [Marszałkowska-Jakubczyk 2011]. Ważnym składnikiem tłuszczu mlekowego są również lipidy eterowe, które pobudzają układ odpornościowy oraz zabezpieczają tkanki przed toksycznym działaniem rodnika hydroksylowego [Cichosz 2013]. Masło, jako naturalny tłuszcz pochodzenia zwierzęcego, w swoim składzie zawiera także cholesterol (220–240 mg/100 g). Jest on niezwykle ważny, ponieważ wpływa na rozwój układu nerwowego. Nadmiar cholesterolu może jednak prowadzić do rozwoju chorób układu krążenia. Dzielne spożycie tego składnika nie powinno przekraczać 300 mg [Marszałkowska-Jakubczyk 2011]. Nieco niedoceniany, aczkolwiek pełniący ważną rolę w organizmie człowieka, jest cukier mleczny, czyli laktoza. Dostarcza ona zarówno energii, jak i odpowiada za przyjemny, lekko słodkawy smak masła, ponieważ składa się z dwóch cukrów prostych – galaktozy i glukozy. W wyniku fermentacji laktozy w przewodnie pokarmowym powstają związki stymulujące rozwój pożądanej mikroflory jelitowej. Laktoza ponadto wspomaga wchłanianie m.in. wapnia i magnezu [Kołozyn-Krajewska i Sikora 2004].

### **Ocena jakości masła dostępnego na rynku lubelskim**

Przedmiotem badań było siedem sortymentów masła o nazwach handlowych: Bieluch, Mlekovita, Finuu, Kerrygold, Łaciate, Krasnystaw i Lurpak. Wszystkie masła miały gramaturę 200 g i zostały zakupione w hipermarketach na terenie miasta Lublin. Spośród zakupionych produktów cztery sortymenty zostały wyprodukowane przez krajowe mleczarnie i do celów badawczych oznaczono je numerami: MK I, MK II, MK III i MK IV, a trzy sortymenty były wyprodukowane poza Polską, tj. importowane: MI V, MI VI i MI VII. Masła zagraniczne pochodziły m.in. z Danii, Irlandii i Finlandii. Zakupione masła miały zawartość tłuszczu od 82% do 83%. Z każdego sortymentu maseł zakupiono po trzy losowo wybrane opakowania, pochodzące z różnych partii. Łącznie przebadano 21 produktów. Wszystkie masła w momencie zakupu znajdowały się w okresie przydatności do spożycia.

W każdym maśle oznaczono podstawowy skład chemiczny, pH plazmy, aldehyd epihydronowy, liczbę kwasową i nadtlenkową wg PN-A86207:1980. Ocenę sensoryczną przeprowadził zespół sześciu osób z zastosowaniem metody skalowania, wykorzystując niestrukturowaną skalę liniową z oznaczonymi wartościami brzegowymi od 0 do 10 jednostek umownych (j.u.), gdzie 0 oznaczało brak wyczuwalności danej cechy, 10 zaś wysoką intensywność. Oceniano m.in. barwę (od jasnokremowej do intensywnie żółtej), zapach, rozpyłalność w ustach, smak i jakość ogólną/akceptowalność (od złej do bardzo dobrej). Pomiarów barwy masła dokonano bezpośrednio po wyjęciu z chłodziarki, na świeżo odsłoniętej powierzchni, przy wykorzystaniu miernika nasycenia barwy Minolta CR-310 (iluminacja/projekcja D65/10°). Wyniki podano w przestrzeni barw CIE L\*a\*b\* [CIE 2004], gdzie: L\* – jasność metryczna; a\* – barwa czerwona; b\* – barwa żółta. W tabelach podano wartości średnie oraz odchylenia standardowe.

W tabeli 1 przedstawiono wyniki z oznaczenia składu chemicznego i pH plazmy maseł krajowych i importowanych, a uzyskane wyniki odniesiono do wymagań Rozporządzenia Parlamentu Europejskiego i Rady (UE) nr 1308/2013 z dnia 17 grudnia 2013 r.

Tabela 1. Skład chemiczny (%) i pH plazmy badanych masel

Pochodzenie	Producent/ oznaczenie	Tłuszcz	Woda	Sucha masa beztłuszczowa	Popiół	pH plazmy
Masła krajowe	MK I	82,85 ±0,05	15,79 ±0,05	1,31 ±0,01	0,02 ±0,00	6,52 ±0,05
	MK II	84,23 ±0,13	14,32 ±0,08	1,40 ±0,05	0,03 ±0,01	5,65 ±0,05
	MK III	83,61 ±0,05	15,19 ±0,04	1,15 ±0,01	0,09 ±0,01	5,84 ±0,05
	MK IV	82,77 ±0,05	15,64 ±0,07	1,54 ±0,02	0,08 ±0,02	5,64 ±0,03
	Średnia	83,37 ±0,63	15,23 ±0,60	1,35 ±0,15	0,05 ±0,03	5,91 ±0,38
Masła importowane	MI V	83,21 ±0,12	15,17 ±0,15	1,57 ±0,04	0,12 ±0,10	5,30 ±0,05
	MI VI	82,98 ±0,03	15,39 ±0,02	1,58 ±0,01	0,08 ±0,06	4,97 ±0,05
	MI VII	82,54 ±0,05	15,98 ±0,04	1,44 ±0,03	0,03 ±0,01	5,05 ±0,07
	Średnia	82,91 ±0,30	15,51 ±0,37	1,53 ±0,07	0,07 ±0,07	5,11 ±0,16
Średnia ogólna <sup>a</sup>		83,17 ±0,55	15,35 ±0,52	1,43 ±0,15	0,06 ±0,05	5,57 ±0,51
Wpływ producenta		**	**	**	ns	**
Wpływ pochodzenia		ns	ns	*	ns	**

\* –  $p \leq 0,05$ ; \*\* –  $p \leq 0,01$ ; ns – nie stwierdzono; <sup>a</sup> Wartość średnia dla wszystkich analizowanych masel

Zawartość tłuszczu, wody, suchej masy beztłuszczowej i pH plazmy istotnie ( $p \leq 0,01$ ) zależała od producenta masła. Istotny ( $p \leq 0,05$ ) wpływ pochodzenia wykazano z kolei w przypadku zawartości suchej masy i pH plazmy. Zawartość wody we wszystkich masłach kształtowała się na zbliżonym poziomie, tj. od 14,32% (MK II) do 15,98% (MI VII) i podobnie jak w przypadku zawartości suchej masy beztłuszczowej była zgodna z wymaganiami Rozporządzenia Parlamentu Europejskiego i Rady (UE) nr 1308/2013 z dnia 17 grudnia 2013 r.

Najwięcej tłuszczu (84,23%) zawierało masło MK II, a najmniej (82,54%) – masło MI VII. Najwięcej popiołu zawierało masło MI V, zaś najmniej – masło nr MK I. Najwyższe pH plazmy stwierdzono w produkcie MK II. Uzyskane w badaniach własnych wyniki w zakresie zawartości wody, suchej masy beztłuszczowej i tłuszczu były zbieżne z rezultatami badań Spiel i Bulak [2016]. Natomiast w przypadku pH plazmy uzyskano znacznie wyższe wartości od podawanych przez Czechowską-Liszkę [2005].

W żadnym z analizowanych masel nie stwierdzono obecności pierwotnych produktów utleniania (nadtlenków) ani wtórnych (aldehydu epihydrynowego), co jest wskaźnikiem wysokiej jakości ocenianych tłuszczów mlecznych (tab. 2). Do podobnych wniosków doszła Czechowska-Liszka [2005], która również nie wykazała w ocenianych produktach obecności aldehydu epihydrynowego, natomiast zawartości nadtlenków była również na relatywnie niskim poziomie i zawierała się w przedziale 0,14–0,95 meq O<sub>2</sub>/kg. Najwyższą wartość liczby kwasowej (1,20 mg KOH/kg) wykazano w maśle MK IV, a najniższą (0,44 mg KOH/kg) zanotowano w MI VII. Na liczbę kwasową wpływało zarówno pochodzenie, jak i producent masła (odpowiednio:  $p \leq 0,05$  i  $p \leq 0,01$ ).

Tabela 2. Liczba kwasowa (mg KOH/kg), liczba nadtlenkowa (meq O<sub>2</sub>/kg) i obecność aldehydu epihydrynowego w badanych masłach

Pochodzenie	Producent/ oznaczenie	LK	LN	Aldehyd epihydrynowy
Masła krajowe	MK I	0,60 ±0,05	ns	ns
	MK II	0,65 ±0,01		
	MK III	0,84 ±0,13		
	MK IV	1,20 ±0,11		
	Średnia	0,82 ±0,26		
Masła importowane	MI V	0,54 ±0,02		
	MI VI	0,76 ±0,01		
	MI VII	0,44 ±0,01		
	Średnia	0,58 ±0,14		
Średnia ogólna <sup>a</sup>		0,72 ±0,24		
Wpływ producenta		**		
Wpływ pochodzenia		*		

\* –  $p \leq 0,05$ ; \*\* –  $p \leq 0,01$ ; ns – nie stwierdzono; <sup>a</sup> Wartość średnia dla wszystkich analizowanych masel; LK – liczba kwasowa; LN – liczba nadtlenkowa

Tabela 3. Ocena sensoryczna ocenianych masel

Pochodzenie	Producent	Barwa	Zapach maślany	Zapach kwaśny	Zapach śmietan- kowy	Zapach jetki	Zapach inny	Rozplywalność w ustach	Smak maślany	Smak słony	Smak śmietan- kowy	Smak kwaśny	Smak zjelezaty/ gorzki/ piekący	Smak inny	Jakość ogólna/ogólna akceptowalność
Masła kra- jowe	MK I	0,2	7,07	0	10	0	0	3,18	7,2	1,29	9,34	0	0	0	8,56
	MK II	0,36	2,83	0	3,51	0	0,06	2,73	6,86	0	4,26	0	0	0	7,8
	MK III	5,7	4,67	0	2,59	0,11	0	1,92	6,24	0,08	5,92	0,08	0	0	8,35
	MK IV	7,4	4,85	0	6,74	0	0	1,15	5,43	0,2	5,72	0,05	0,8	0	6,73
	Średnia	3,37	4,86	0	6,46	0,03	0,02	2,25	6,43	0,39	6,31	0,03	0,2	0	7,86
Masła im- por- to- wane	MI V	2,8	9,28	0	2,51	0	0	7,11	4,98	0	6	0	0	0	7,6
	MI VI	4,03	8,02	0	1,57	0	0	6,3	6,57	1,27	0,79	4	1,95	0	2,5
	MI VII	3,66	3,61	0	2,56	0	0,05	2,78	2,47	0,35	4,58	1,2	0,21	0	4,55
	Średnia	3,5	6,97	0	2,21	0	0,02	5,4	4,67	0,54	3,79	1,73	0,72	0	4,88
Średnia ogólna <sup>a</sup>	3,42	5,76	0	4,64	0,02	0,02	3,6	5,68	0,46	5,23	0,76	0,42	0	6,58	
Wpływ producenta	**	**	ns	**	**	*	**	**	**	**	**	**	**	ns	**
Wpływ pochodzenia	ns	**	ns	**	*	ns	**	**	ns	**	**	*	ns	**	

\* –  $p \leq 0,05$ ; \*\* –  $p \leq 0,01$ ; ns – nie stwierdzono; <sup>a</sup> Wartość średnia dla wszystkich analizowanych masel

Pod względem zapachu maślanego najwyżej oceniono masło MI V, a pod względem zapachu i smaku śmietankowego – masło MK I. Zapach kwaśny nie był wyczuwalny w żadnym z ocenianych masel, natomiast zapach jelki w nieznacznym stopniu (0,11 j.u.) stwierdzono w maśle MK III. Zapacha inny (obcy) był nieznacznie wyczuwalny w masłach MK II i MI VII (0,05–0,06). Największą rozplywalnością w ustach odznaczało się masło MI V, a najmniejszą – MK IV. Masło MK I z kolei cechowało się najbardziej maślanym smakiem. Smak słony był niewyczuwalny w produktach MK II i MI V, natomiast w maśle MK I, MK II i MI V oceniający nie stwierdzili smaku kwaśnego. W tłuszczu mlecznym MK IV, MI VI i MI VII oceniający w nieznacznym stopniu (0,20–1,95 j.u.) stwierdzili nutę smaku zjełczałego. Najwyższą jakością ogólną/akceptowalnością cechowało się masło MK I. Resumując, masła krajowe w porównaniu z masłami importowanymi uzyskiwały korzystniejsze noty w zakresie barwy, smaku maślanego i jakości ogólnej, ale gorsze pod względem zapachu maślanego oraz rozplywalności. Zasadniczo do najczęściej występujących wad masła należą wady wyglądu, struktury i konsystencji oraz smaku i zapachu. Odchylenia jakości najczęściej wynikają z nieodpowiedniej jakości surowca, błędów technologicznych, nieprzestrzegania zasad higieny produkcji lub niewłaściwych warunków przechowywania [Król 2011, Litwińczuk i in. 2004].

Tabela 4. Wyróżniki barwy ocenianych masel

Pochodzenie	Producent/oznaczenie	L*	a*	b*	C*	h <sup>0</sup>
Masła krajowe	MK I	92,89 ±0,23	-2,23 ±0,03	33,59 ±0,12	33,66 ±0,12	93,77 ±0,06
	MK II	92,50 ±0,30	-1,90 ±0,03	33,65 ±0,15	33,71 ±0,13	93,07 ±0,12
	MK III	92,57 ±0,19	-1,43 ±0,04	36,62 ±0,10	36,64 ±0,10	92,17 ±0,06
	MK IV	92,66 ±0,41	-1,37 ±0,11	37,10 ±0,64	37,12 ±0,64	92,00 ±0,10
	Średnia	92,66 ±0,29	-1,73 ±0,37	35,24 ±1,73	35,28 ±1,70	92,75 ±0,75
Masła importowane	MI V	91,58 ±0,11	-0,69 ±0,04	40,10 ±0,17	40,12 ±0,16	90,67 ±0,58
	MI VI	91,18 ±0,29	-0,95 ±0,04	45,56 ±0,34	45,57 ±0,34	91,13 ±0,06
	MI VII	92,55 ±0,32	-1,62 ±0,19	37,19 ±3,08	37,22 ±3,08	92,43 ±0,12
	Średnia	91,77 ±0,65	-0,09 ±0,43	40,95 ±3,99	40,97 ±3,98	91,41 ±0,85
Średnia ogólna <sup>a</sup>		92,28 ±0,65	-1,46 ±0,51	37,69 ±4,05	37,72 ±4,03	92,18 ±1,03
Wpływ producenta		**	**	**	**	**
Wpływ pochodzenia		**	**	**	**	**

\* –  $p \leq 0,05$ ; \*\* –  $p \leq 0,01$ ; ns – nie stwierdzono; <sup>a</sup> Wartość średnia dla wszystkich analizowanych masel

Wszystkie analizowane masła odznaczały się wysoką jasnością L\* mieszczącą się w zakresie 91,18–92,89. W przypadku parametru a\* największy udział barwy zielonej miało masło MK I (-2,23), najmniejszy: MI V (-0,69). Najwyższy udział barwy żółtej (b\*) stwierdzono dla produktu MI VI, a najniższy – dla MK I. Należy podkreślić, że na wszystkie składowe barwy masła istotnie ( $p \leq 0,01$ ) wpływał zarówno ich producent, jak i pochodzenie.



## Podsumowanie

Masło to wartościowy produkt spożywczy pod względem zarówno właściwości prozdrowotnych, jak i walorów sensorycznych. Wytwarzany jest przez wielu producentów i oferowany w różnych regionach i krajach.

Jakość masła jest determinowana wieloma czynnikami, m.in. jakością surowca (mleka), parametrami technologicznymi jego wyrobu, warunkami magazynowania czy dystrybucji gotowego produktu. W ocenie konsumenckiej do najważniejszych wyróżników jakościowych masła należy zaliczyć cechy smakowo-zapachowe oraz teksturę, zwłaszcza twardość oraz podatność na rozsmarowanie.

W badaniach własnych wykazano, że właściwości fizykochemiczne i organoleptyczne masel są uzależnione zarówno od ich pochodzenia, jak i producenta. Ogólna jakość sensoryczna masel krajowych była korzystniejsza niż masel pochodzących z importu. Niższą jasność ( $L^*$ ) oraz udział barwy zielonej ( $a^*$ ) przy jednocześnie wyższym udziale barwy żółtej ( $b^*$ ) stwierdzono dla masel importowanych. W żadnym z analizowanych tłuszczów mlecznych nie zanotowano zawartości nadtlenków i obecności aldehydu epihydrynowego, co świadczy o wysokiej jakości ocenianych produktów. Wymagane Rozporządzeniem Parlamentu Europejskiego i Rady (UE) nr 1308/2013 z dnia 17 grudnia 2013 r. wartości wskaźników fizykochemicznych, tj. zawartości wody, tłuszczu oraz suchej masy beztłuszczowej, mieściły się w dopuszczalnych granicach. Podsumowując, należy stwierdzić, że jakość masel dostępnych w sieciach handlu detalicznego miasta Lublin nie budzi żadnych zastrzeżeń. Świadczy to zarówno o dbałości producenta o jakość dostarczanych na rynek wyrobów, jak i o przestrzeganiu przez jednostki handlu detalicznego należytych warunków przechowywania oferowanych do sprzedaży produktów.

## Bibliografia

- Baranowska M., Bielecka M., Staniewski B., Nowak H., 2017. Lotne związki smakowo-zapachowe w polskim maśle. *Przem. Spoż.* 71(5), 21–26.
- Cichosz G., 2013. Masło – najzdrowszy tłuszcz w diecie człowieka. *Przegl. Piek. Cuk.* 61(9), 14–17.
- Cichosz G., Czeczot H., 2011a. Rzekomo niezdrowe tłuszcze zwierzęce. *Pol. Merkur. Lek.* 31(185), 318–322.
- Cichosz G., Czeczot H., 2011b. Stabilność oksydacyjna tłuszczów jadalnych – konsekwencje zdrowotne. *Bromatol. Chem. Toksykol.* 44(1), 50–60.
- CIE, 2004. *Colorimetry (3rd ed.)*. Commission International de l'Eclairage. Vienna, Austria, 16–20.
- Czechowska-Liszka M., 2005. Badanie i ocena jakości różnych rodzajów masła dostępnego na rynku. *Zesz. Nauk. Akad. Ekonom. Kraków*, 678.
- Górska E., 2008. Masło czy margaryna. *Probl. Jakości* 6(45).
- Górska J., 2014. Masło powróci do łask? *For. Mlecz. Handel Fach. Mag. Handl. Prod. Nabiał. Margaryna.* 6, 44–49.
- Kołożyn-Krajewska D., Sikora T., 2004. *Towaroznawstwo żywności*. WSiP, Warszawa.
- Król J., 2011. *Metody oceny towaroznawczej surowców i produktów zwierzęcych*. Wyd. UP Lublin.
- Litwińczuk A., Litwińczuk Z., Barłowska J., Florek M., 2004. *Surowce zwierzęce – ocena i wykorzystanie*. PWRiL, Warszawa.

- Marszałkowska-Jakubczyk J., 2011. Masło czy margaryna – prawda o tłuszczu mlecznym. *Przeł. Mlecz.* 9, 16–17.
- Rozporządzenia Parlamentu Europejskiego i Rady (UE) nr 1308/2013 z dnia 17 grudnia 2013 r. ustanawiające wspólną organizację rynków produktów rolnych oraz uchwalające rozporządzenia Rady (EWG) nr 922/72, (EWG) nr 234/79, (WE) nr 1037/2001 i (WE) nr 1234/2007.
- Rutkowska E., Tambor K., Rutkowska J., Stołyhwo A., 2015. Charakterystyka prozdrowotnych kwasów tłuszczowych tłuszczu mlecznego. *Probl. Hig. Epidemiol.* 96(2), 377–386.
- Spiel J., Bulak K., 2016. Charakterystyka żywieniowa i organoleptyczna masła wyprodukowanego metodą tradycyjną „domową” i przemysłową. *Przeł. Mlecz.* 4, 22–28.
- Ziarno M., Zaręba D., 2008a. Dodatki w produkcji masła i miksów na bazie tłuszczu mlecznego. *Przem. Spoż.* 62(10), 24–28.
- Ziarno M., Zaręba D., 2008b. Masło i jego wykorzystanie w branży ciastkarsko-cukierniczej. *Przeł. Piek. Cuk.* 56(5), 72–79.
- Żywica R., Banach J.K., Charzyńska D.G., Staniewski B., 2012. Wpływ dodatku oleju słonecznikowego na właściwości przewodnościowe miksów tłuszczowych. *Żywn. Nauka. Technol. Jakość* 2(81), 161–172.

## **Egzopolisacharydy w produkcji żywności funkcjonalnej**

### **Exopolysaccharides in the production of functional food**

Rosnąca świadomość konsumentów wpływa na zmianę preferencji żywieniowych. Coraz częściej mówi się o składnikach zawartych w żywności. Wymusza to na producentach zastąpienie sztucznych dodatków naturalnymi zamiennikami. Według badań przeprowadzonych w ramach projektu CLYMBOL (finansowanego przez Komisję Europejską w latach 2012–2016) jakość żywności funkcjonalnej była wyższa od żywności tradycyjnej. Kolejnym aspektem jest prozdrowotna funkcja żywności. Żywność funkcjonalna jest różnie definiowana w zależności od kraju. Według Centrum Żywności Funkcjonalnej (FFC – *Family Food Centre*) żywność funkcjonalna to „naturalna lub przetworzona żywność, która zawiera znane lub nieznanne związki biologicznie czynne; które w określonych, skutecznych, nietoksycznych ilościach zapewniają klinicznie udowodnione i udokumentowane korzyści zdrowotne w zakresie zapobiegania, zarządzania lub leczenia chorób przewlekłych” [Doyon i Labrecque 2008, Hoefkens i Verbeke 2013].

W Japonii wprowadzono procedurę zatwierdzania przez organy regulacyjne żywności funkcjonalnej oraz termin FOSHU oznaczający żywność o określonym przeznaczeniu zdrowotnym. W przypadku żywności FOSHU istnieje możliwość umieszczania na etykiecie informacji o oczekiwanej poprawie zdrowia na skutek spożywania danego produktu. Duża część FOSHU ma składniki funkcjonalne, takie jak bakterie kwasu mlekowego (LAB – *lactic acid bacteria*) stosowane w leczeniu zaburzeń jelitowych [Arihara 2014]. Egzopolisacharydy mają duży potencjał jako dodatek do żywności funkcjonalnej, ponieważ są stosowane jako naturalny zamiennik dodatków do żywności oraz przypisywane są im prozdrowotne właściwości. Ponadto bakteriom określanym mianem probiotycznych częściowo przypisuje się prozdrowotne właściwości wynikające ze zdolności wytwarzania egzopolisacharydów. Do właściwości prozdrowotnych egzopolisacharydów zalicza się właściwości przeciwnowotworowe, przeciwwrzodowe, immunomodulujące, przeciwwirusowe i obniżające poziom cholesterolu.

### **Egzopolisacharydy – polimery cukrowe**

Polisacharydy są wykorzystywane w przemyśle przetwórczym jako środki poprawiające lepkość, stabilizatory, emulgatory, środki żelujące lub utrzymujące wilgoć. Rynek polisacharydów został zdominowany przez polisacharydy pochodzenia roślinnego, takie jak pektyna, karagen czy alginian, które są pozyskiwane z alg [Freitas i in. 2011].

---

<sup>1</sup> Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, Wydział Nauk o Żywności i Biotechnologii, jan.sadurski@outlook.com

Alternatywą dla polisacharydów są egzopolisacharydy (EPS) – polimery pochodzenia mikrobiologicznego, które nie wymagają modyfikacji w celu poprawy ich właściwości reologicznych, tak jak w przypadku polisacharydów. Egzopolisacharydy są to polisacharydy występujące poza komórką, ale z nią związane najczęściej wiązaniem kowalencyjnym. Ze względu na typ występowania egzopolisacharydy można podzielić na trzy grupy: kapsułkowe (CPS), śluzowe (EPS) oraz polisacharydy ściany komórkowej (WPS) [Dols-Lafargue 2018]. Egzopolisacharydy kapsułkowe są związane z peptydoglikanem, tworząc grubą i spoistą kapsułkę lub cienką i spójną warstwę filmu. Natomiast WPS nie są wydzielane poza komórkę, łączą się trwale ze ścianą komórkową wiązaniem kowalencyjnym, a śluzowe jako jedyne są w pełni uwalniane do otoczenia. Egzopolisacharydy chronią komórkę przed niekorzystnymi warunkami środowiska (np. zimno, stres osmotyczny, wyschnięcie), substancjami toksycznymi (np. antybiotyki i polifenole), utrudniają również fagocytozę. Wpływają na proces adhezji w trakcie tworzenia biofilmu, co umożliwia im kolonizowanie różnych ekosystemów [Flemming 2016].

Egzopolisacharydy śluzowe i kapsułkowe mogą przyjmować formę liniową lub rozgałęzioną [Badel 2011] oraz składać się z jednego (HoPs – *homopolysaccharides*) lub kilku typów monomerów (HePs – *heteroexopolysaccharide*). Homoegzopolisacharydy (HoPS) są syntezowane poza komórką przez glikosacharazę z wykorzystaniem jednego substratu, którym jest sacharoza; dzieli się je na  $\alpha$ -D-glukany oraz  $\beta$ -D-fruktany. Do  $\alpha$ -D-glukanów należą dekstrany, mutany i reuterany, a do  $\beta$ -D-fruktanów – lewany, fruktany typu inulina. Różnią się od siebie stopniem i rodzajem rozgałęzień, konformacją, długością łańcucha glikanu oraz masą molekularną. Różnice w tych cechach wpływają na specyficzne właściwości poszczególnych HoPS, takie jak reologia i rozpuszczalność.

Heteropolisacharydy (HePS) mają bardziej skomplikowany proces syntezy zachodzący w komórce. W tym przypadku synteza opiera się na montażu wcześniej zsyntezowanych bloków budulcowych powstałych poprzez katalizę kilkoma glikotransferazami cukrów nukleotydowych [De Vuyst 2001]. W porównaniu z homopolisacharydami cechuje je większa różnorodność. Heteropolisacharydy dzieli się na trzy podgrupy: zawierające galaktozę, zawierające galaktozę i glukozę oraz zawierające galaktozę, glukozę i ramnozę. Istnieją również podziały ze względu na wzorce połączeń w strukturze HePS.

Głównymi producentami egzopolisacharydów są bakterie z rodzaju *Streptococcus*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc* i *Pediococcus* oraz niektóre *Bifidobacteria*. Niektóre bakterie produkują tylko CPS, inne tylko EPS, natomiast jeszcze inne mają zdolność syntezy obu tych form [Yang 1999]. Pierwszym produkowanym przemysłowo egzopolisacharydem był dekstran. Został odkryty w 1880 r. w syropie trzcinowym – stwierdzono, że dekstran jest odpowiedzialny za zagęszczanie i żelowanie syropu [Crescenzi 1995]. Stosowany jest w gumach i galaretkach jako środek żelujący. W lodach działa jako inhibitor krystalizacji, a w budyniach – jako substancja teksturująca [Whistler 1990]. Drugim egzopolisacharydem zatwierdzonym w produkcji żywności jest ksantan. Został dopuszczony w 1969 r. Określono go wzorcowym ze względu na szerokie zastosowanie w przetwórstwie spożywczym i branży niespożywczej [Sutherland 1998]. Produkcja tego egzopolisacharydu jest opłacalna ze względu na wysoki stopień konwersji substratu (którym jest glukoza) do polimeru (60–70%) [Sutherland 1998]. Ksantan wykazuje wysoką lepkość przy niskim stężeniu oraz stabilność w szerokim zakresie pH i temperatury [Becker 1998].

## Rola egzopolisacharydów w adaptacji do środowiska

Funkcje egzopolisacharydów w komórce nie zostały do końca zbadane oraz opisane. Jedną z ról egzopolisacharydów jest ochrona komórki przed niekorzystnymi warunkami środowiska, takimi jak wyschnięcie, stres osmotyczny, antybiotyki lub związki toksyczne (np. jony metali toksycznych, dwutlenek siarki i etanol) czy fagocytoza. Wykryto również korelację między szczepami LAB produkującymi EPS a zwiększoną odpornością na fagi [Deveau 2002]. Dodatkowo w literaturze dostępne są dane wskazujące, że  $\beta$ -glukan produkowany przez *Lactobacillus paracasei* NFBC 338 przyczynił się do zwiększenia odporności bakterii na stres kwasowy, termiczny oraz spowodowany obecnością soków żołądkowych. Testy z użyciem kwasów żółciowych ujawniły słabszy wzrost przeżywalności szczepów produkujących egzopolisacharydy [Stack i in. 2010].

## Egzopolisacharydy w żywności funkcjonalnej

Ze względu na niską produkcję heteropolisacharydów przez bakterie kwasu mlekowego nie ma obecnie ekonomicznej metody produkcji na dużą skalę egzopolisacharydów w postaci oczyszczonej, która mogłaby być stosowana jako dodatek do żywności. Zamiast tego opracowuje się startery bakteryjne, które są dodawane do produkcji przetworów mlecznych [Duboc i Mollet 2001], poprawiając lepkość, reologię, konsystencję, stabilność oraz teksturę produktu [Badel 2011]. Nawet niewielkie ilości heteropolisacharydów wytwarzane przez LAB w procesie produkcji jogurtów, serów oraz pieczywa mają silnie wpływają na fizykochemiczne właściwości produktu.

## Skandynawskie mleka fermentowane

Skandynawskie sfermentowane mleka pitne nazywane *fil*, *langfil* i *viili* są popularne w krajach skandynawskich i spożywane głównie na śniadanie. Powstają w procesie fermentacji mleka z użyciem mezofilnych bakterii kwasu mlekowego produkujących heteropolisacharydy [Roginski 1999]. Najbardziej popularnym napojem jest langfil fermentowany przez *Lactococcus* i *Leuconostoc* odpowiedzialną za lekko kwaśny smak. Langfil jest gęsty i ciągły w konsystencji. Za tę charakterystyczną konsystencję odpowiada szczep *Lactococcus lactis* wytwarzający HePS i drożdże fermentujące laktozę. Homofermentacja prowadzi do powstania kwaśniejszego smaku, podczas gdy HePS wpływają na teksturę. Fil jest podobny do jogurtu, ale fermentacja zachodzi z udziałem innych szczepów bakterii, przez co finalnie smak tego napoju jest podobny do langfil.

## Kefir

Kefir pochodzi z regionów Kaukazu, jest to kwaśny, fermentowany napój mleczny popularny w krajach wschodniej Europy. Jego cząstki są galaretowate i nieregularne, o średnicy około 8–10 mm, składają się z mieszaniny LAB (głównie *Lactobacillus*), drożdży fermentujących laktozę i bakterii kwasu octowego. W kefirze obecny jest kefiran, heteropolisacharyd składający się z glukozy i galaktozy w stosunku 1:1. Stanowi on matrycę dla ziaren kefirowych i pełni funkcję ochronną, gdy ziarna są odzyskiwane w celu

inokulacji nowej partii mleka. Nadaje produktowi mulistą, gęstą konsystencję. Wykazano, że obecność drożdży *Saccharomyces cerevisiae* wpływa stymulująco na produkcję tego egzopolisacharydu przez *Lactobacillus kefiranofaciens* [Cheirsilp 2003]. Udowodniono, że kefiran pozytywnie wpływa na zdrowie, przyczyniając się do obniżenia ciśnienia krwi oraz cholesterolu w osoczu [Maeda i in. 2004]. Ponadto, rozpuszczony w wodzie, opóźnia wzrost nowotworów *in vivo*, gdy jest podawany doustnie [Murofushi 1986].

## Jogurty

Głównym komercyjnym rynkiem spożywczym stosującym szczepy LAB wytwarzających egzopolisacharydy jest produkcja jogurtów [Broadbent 2003]. Egzopolisacharydy poprawiają właściwości reologiczne, zapobiegają synerazie oraz są stosowane jako zamienniki dla stabilizatorów [Duboc i Mollet 2001]. Eksperymentuje się również z zastosowaniem fermentowanego mleka jako stabilizatora w produkcji lodów oraz jako źródło  $\beta$ -galaktozydazy [Hong i Marshall 2001]. Jogurty są produkowane przy użyciu dwóch szczepów bakterii: *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* i *Streptococcus salivarius* ssp. *thermophilus*. W przypadku jogurtów egzopolisacharydy poprawiają lepkość i smak jogurtu oraz ryzyko pęknięcia żelu podczas fermentacji lub podczas transportu i przechowywania jogurtu. Lepkość produktu końcowego zależy od struktury zawartych w nim egzopolisacharydów [Tuinier 1999]. Wysoką lepkość można uzyskać, stosując heteropolisacharydy o wysokiej masie molekularnej i sztywnych łańcuchach [Tuinier 2001].

## Sery

W serach egzopolisacharydy odpowiadają za zatrzymywanie wody w produkcie końcowym. Jest to szczególnie ważne w przypadku produktów niskotłuszczowych, ponieważ zarówno tłuszcz, jak i wilgoć odpowiadają za teksturę sera. Mikrostruktura takich serów wykazuje strukturę porowatą, w której duże pory są wypełnione egzopolisacharydami [Hassan 2002]. Tworzą one gąbczastą strukturę przypominającą sieć podobną do tłuszczu mleka. Przydatność starterów produkujących HePS udowodniono w produkcji takich serów jak: cheddar [Dabour 2005], mozzarella [Zisu i Shah 2005] i feta [Hassan 2002].

## Pieczywa

W przemyśle piekarskim wykorzystuje się dekstran syntezowany przez *Leuconostoc mesenteroides*. Wykazano, że dodatek dekstranu do pieczywa poprawia reologię ciasta i jakość pieczywa [Brandt 2003]. Kultury starterowe produkujące EPS mogą działać jako środki zagęszczające, nadające lepkość i zmniejszające synerazę [De Vuyst 1999], eliminując w ten sposób dodatki syntetyczne.

## Właściwości prozdrowotne egzopolisacharydów

Działanie probiotyczne zostało potwierdzone u EPS typu fruktanowego produkowanego przez szczep *Lactobacillus sanfranciscensis* [Korakli i in. 2002]. Potwierdzono również efekt bifidogenny EPS należących do lewanów produkowanych przez inne

szczypty *L. sanfranciscensis* [Dal Bello 2001]. Istnieją także doniesienia, że egzopolisacharydy syntezowane przez bifidobakterie są wykorzystywane jako substraty przez mikroflorę jelitową człowieka [Salazar 2008]. Egzopolisacharydom produkowanym przez *Streptococcus salivarius* ssp. *thermophilus* przypisuje się działanie gastroprotekcyjne. Oczyszczone EPS skutecznie zapobiegają przewlekłemu zapaleniu błony śluzowej żołądka [Rodríguez 2009]. Stwierdzono też działanie przeciwrzodowe EPS produkowanych przez *Lactobacillus*, *Streptococci* oraz *Bifidobacteria* [Nagaoka 1994]. Mleko fermentowane ze szczepem *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* SBT0495 powodowało obniżenie poziomu cholesterolu [Nakajima 1992]. Spośród pięciu szczepów *Lactobacillus delbrueckii*, wyizolowanych z jogurtu, trzy szczepy produkujące znaczne ilości EPS były w stanie usunąć większe ilości cholesterolu z pożywki w porównaniu ze szczepami o niskiej produkcji EPS [Tok i Aslim 2010].

### Podsumowanie

Egzopolisacharydy mają duży potencjał w produkcji żywności funkcjonalnej. Mogą być stosowane jako zamiennik dla tłuszczów, obniżając ich poziom w produkcie przy zachowaniu pierwotnych właściwości reologicznych i sensorycznych. Zmniejszają w ten sposób koszt produkcji i skracają jej proces poprzez eliminację etapu dodawania substancji teksturujących i zagęszczających. Mogą też być składnikiem prozdrowotnym nadającym żywności cech funkcjonalnych, co w połączeniu z obecnością bakterii LAB, które je produkują, zwiększa lub rozszerza spektrum działania prozdrowotnego.

### Bibliografia

- Arihara K., 2014. Functional foods. W: Encyclopedia of Meat Sciences, M. Dikeman, C. Devine (red.). Academic Press, London, 32–36.
- Badel S., Bernardi T., Michaud P., 2011. New perspectives for Lactobacilli exopolysaccharides. *Biotechnol. Adv.* 29(1), 54–66. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2010.08.011>
- Becker A., Katzen F., Pühler A., Ielpi L., 1998. Xanthan gum biosynthesis and application: a biochemical/genetic perspective. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 50(2), 145–152. <https://doi.org/10.1007/s002530051269>
- Broadbent J.R., McMahon D.J., Welker D.L., Oberg C.J., Moineau S., 2003. Biochemistry, genetics, and applications of exopolysaccharide production in *Streptococcus thermophilus*: a review. *J. Dairy Sci.* 86(2), 407–423. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(03\)73619-4](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(03)73619-4)
- Brandt M.J., Roth K., Hammes W.P., 2003. Effect of an exopolysaccharide produced by *Lactobacillus sanfranciscensis* LTH1729 on dough and bread quality. W: Sourdough from fundamentals to application, L. de Vyust (red.). Vrije Universiteit, Brussels, 80.
- Cheirsilp B., Shoji H., Shimizu H., Shioya S., 2003. Interactions between *Lactobacillus kefiranofaciens* and *Saccharomyces cerevisiae* in mixed culture for kefiran production. *J. Biosci. Bioeng.* 96(3), 279–284. [https://doi.org/10.1016/s1389-1723\(03\)80194-9](https://doi.org/10.1016/s1389-1723(03)80194-9)
- Crescenzi V., 1995. Microbial polysaccharides of applied interest: ongoing research activities in Europe. *Biotechnol. Progress*, 11(3), 251–259. <https://doi.org/10.1021/bp00033a002>
- Dabour N., Kheadr E.E., Fliss I., LaPointe G., 2005. Impact of ropy and capsular exopolysaccharide-producing strains of *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* on reduced-fat Cheddar cheese production and whey composition. *Int. Dairy J.* 15, 459–471. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2004.08.011>

- Dal Bello F., Walter J., Hertel C., Hammes W.P., 2001. *In vitro* study of prebiotic properties of levan-type exopolysaccharides from Lactobacilli and non-digestible carbohydrates using denaturing gradient gel electrophoresis. *Syst. Appl. Microbiol.* 24(2), 232–237. <https://doi.org/10.1078/0723-2020-00033>
- De Vuyst L., de Vin F., Vaningelgem F., Degeest B., 2001. Recent developments in the biosynthesis and applications of heteropolysaccharides from lactic acid bacteria. *Int. Dairy J.* 11, 687–707. [https://doi.org/10.1016/S0958-6946\(01\)00114-5](https://doi.org/10.1016/S0958-6946(01)00114-5)
- De Vuyst L., Degeest B., 1999. Heteropolysaccharides from lactic acid bacteria. *FEMS Microbiol. Rev.* 23(2), 153–177. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.1999.tb00395.x>
- Deveau H., Van Calsteren M.R., Moineau S., 2002. Effect of exopolysaccharides on phage-host interactions in *Lactococcus lactis*. *Appl. Environ. Microbiol.* 68(9), 4364–4369. <https://doi.org/10.1128/aem.68.9.4364-4369.2002>
- Dols-Lafargue M., 2018. Polysaccharide production by wine lactic acid bacteria: negative trait or potential advantage? A review. *Appl. Microbiol.* 4. <https://doi.org/10.4172/2471-9315.1000143>
- Doyon M., Labrecque J., 2008. Functional foods: a conceptual definition. *Br. Food J.* 110(11), 1133–1149. <https://doi.org/10.1108/00070700810918036>
- Duboc P., Mollet B., 2001. Applications of exopolysaccharides in dairy industry. *Int. Dairy J.* 11(9), 759–768. [https://doi.org/10.1016/S0958-6946\(01\)00119-4](https://doi.org/10.1016/S0958-6946(01)00119-4)
- Flemming H.C., 2016. EPS – Then and Now. *Microorg.* 4(4), 41. <https://doi.org/10.3390/microorganisms4040041>
- Freitas F., Alves V.D. Reis M.A.M., 2011. Advances in bacterial exopolysaccharides: from production to biotechnological applications. *Trends Biotechnol.* 29(8), 388–398. <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2011.03.008>
- Hassan A.N., Frank J.F., Qvist K.B., 2002. Direct observation of bacterial exopolysaccharides in dairy products using confocal scanning laser microscopy. *J. Dairy Sci.* 85(7), 1705–1708. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(02\)74243-4](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(02)74243-4)
- Hoefkens C., Verbeke W., 2013. Consumers' health-related motive orientations and reactions to claims about dietary calcium. *Nutr.* 5(1), 82–96. <https://doi.org/10.3390/nu5010082>
- Hong S.H., Marshall R.T., 2001. Natural exopolysaccharides enhance survival of lactic acid bacteria in frozen dairy desserts. *J. Dairy Sci.* 84(6), 1367–1374. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(01\)70167-1](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(01)70167-1)
- Korakli M., Gänzle M.G., Vogel R.F., 2002. Metabolism by bifidobacteria and lactic acid bacteria of polysaccharides from wheat and rye, and exopolysaccharides produced by *Lactobacillus sanfranciscensis*. *J. Appl. Microbiol.* 92(5), 958–965. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2672.2002.01607.x>
- Maeda H., 2004. Effects of an exopolysaccharide (kefiran) on lipids, blood pressure, blood glucose, and constipation. *BioFact.* 22(1–4), 197–200. <https://doi.org/10.1002/biof.5520220141>
- Murofushi M., Mizugushi J., Aibara K., Matuhasi T., 1986. Immunopotentiative effect of polysaccharide from kefir grain, KGF-C, administered orally in mice. *Immunopharmacol.* 12(1), 29–35. [https://doi.org/10.1016/0162-3109\(86\)90049-4](https://doi.org/10.1016/0162-3109(86)90049-4)
- Nagaoka M., Hashimoto S., Watanabe T., Yokokura T., Mori Y., 1994. Anti-ulcer effects of lactic acid bacteria and their cell wall polysaccharides. *Biol. Pharm. Bull.* 17(8), 1012–1017. <https://doi.org/10.1248/bpb.17.1012>
- Nakajima H., Hirota T., Toba T., Itoh T., Adachi S., 1992. Structure of the extracellular polysaccharide from slime-forming *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* SBT 0495. *Carbohydr. Res.* 224, 245–253. [https://doi.org/10.1016/0008-6215\(92\)84110-e](https://doi.org/10.1016/0008-6215(92)84110-e)
- Rodríguez C., Medici M., Rodríguez A.V., Mozzi F., Font de Valdez G., 2009. Prevention of chronic gastritis by fermented milks made with exopolysaccharide-producing *Streptococcus thermophilus* strains. *J. Dairy Sci.* 92(6), 2423–2434. <https://doi.org/10.3168/jds.2008-1724>
- Roginski H., Fermented milks. Products from Northern Europe. W: *Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition*, 2nd ed., B. Caballero (red.). Academic Press, 2375–2383. <https://doi.org/10.1016/B0-12-227055-X/00457-0>



- Salazar N., Gueimonde M., Hernández-Barranco A.M., Ruas-Madiedo P., de los Reyes-Gavilán C.G., 2008. Exopolysaccharides produced by intestinal Bifidobacterium strains act as fermentable substrates for human intestinal bacteria. *Appl. Environ. Microbiol.* 74(15), 4737–4745. <https://doi.org/10.1128/AEM.00325-08>
- Stack H.M., Kearney N., Stanton C., Fitzgerald G.F., Ross R.P., 2010. Association of beta-glucan endogenous production with increased stress tolerance of intestinal lactobacilli. *Appl. Environ. Microbiol.* 76(2), 500–507. <https://doi.org/10.1128/AEM.01524-09>
- Sutherland I.W., 1998. Novel and established applications of microbial polysaccharides. *Trends Biotechnol.*, 16(1), 41–46. [https://doi.org/10.1016/S0167-7799\(97\)01139-6](https://doi.org/10.1016/S0167-7799(97)01139-6)
- Tok E., Aslim B., 2010. Cholesterol removal by some lactic acid bacteria that can be used as probiotic. *Microbiol. Immunol.* 54(5), 257–264. <https://doi.org/10.1111/j.1348-0421.2010.00219.x>
- Tuinier R., Zoon P., Olieman C., Cohen Stuart M.A., Fleer G.J., de Kruif C.G., 1999. Isolation and physical characterization of an exocellular polysaccharide. *Biopolym.* 49(1), 1–9. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-0282\(199901\)49:1<::AID-BIP1>3.0.CO;2-B](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0282(199901)49:1<::AID-BIP1>3.0.CO;2-B)
- Tuinier R., van Casteren W.H.M., Looijstejin H.A., Voragen A.G.J., Zoon P., 2001. Effects of structural modifications on some physical characteristics of exopolysaccharides from *Lactococcus lactis*. *Biopolym.* 59, 160–166. <https://doi.org/> [https://doi.org/10.1002/1097-0282\(200109\)59:3%3C160::AID-BIP1015%3E3.0.CO;2-V](https://doi.org/10.1002/1097-0282(200109)59:3%3C160::AID-BIP1015%3E3.0.CO;2-V)
- Whistler R., Daniel J.R., 1990. *Functions of polysaccharides in foods*. W: Food additives. Inc New York, 395–423.
- Yang Z., Huttunen E., Staaf M., Widmalm G., Tehnu H., 1999. Separation, purification and characterisation of extracellular polysaccharides produced by slime-forming *Lactococcus lactis* ssp. *cremoris* strains. *Int. Dairy J.* 9(9), 631–638. [https://doi.org/10.1016/S0958-6946\(99\)00133-8](https://doi.org/10.1016/S0958-6946(99)00133-8)
- Zisu B., Shah N.P., 2005. Textural and functional changes in low-fat Mozzarella cheeses in relation to proteolysis and microstructure as influenced by the use of fat replacers, pre-acidification and EPS starter. *Int. Dairy J.*, 15(6), 957–972. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2004.09.014>

## **Jakość wybranych probiotycznych jogurtów i napojów mlecznych dostępnych na lokalnym rynku**

Quality of selected probiotic yoghurts and dairy drinks available on the local market

Oprócz podstawowej roli żywienia, polegającej na dostarczaniu niezbędnych składników odżywczych podczas wzrostu i rozwoju organizmu, coraz ważniejsze stają się także inne aspekty, np. utrzymanie zdrowia w jak najlepszej kondycji fizycznej oraz przeciwdziałanie chorobom. W ostatnich latach obserwuje się dynamiczny rozwój branży spożywczej oraz zwiększającą się podaż żywności funkcjonalnej, do której należy m.in. żywność probiotyczna pochodzenia zarówno zwierzęcego, jak i roślinnego.

Od pewnego czasu można obserwować utrzymujący się trend na rynku dotyczący pojawienia się żywności funkcjonalnej. Tego rodzaju żywność może być uznana, gdy spełnia określone kryteria. Przede wszystkim w przypadku, gdy potwierdzono badaniami i udowodniono jej korzystny wpływ na co najmniej jedną funkcję organizmu ponad efekt odżywczy, który pełni swoją rolę poprzez działanie polegające na poprawie stanu zdrowia oraz samopoczucia, a także zmniejszeniu ryzyka występowania różnego rodzaju chorób. Żywność taka musi także spełniać pewne kryteria organoleptyczne, w tym to, że musi przypominać żywność konwencjonalną oraz wykazywać korzystne oddziaływanie w takich ilościach, co do których oczekuje się, że będą normalnie spożywane wraz z dietą. Żywność funkcjonalna cechuje się głównie podwyższoną jakością zdrowotną. Wynika ona między innymi z tego, że w składzie tej żywności można zaobserwować dużą ilość substancji bioaktywnych, które stymulują pożądaną przebieg przemian metabolicznych. Korzyści, jakie niesie ze sobą spożywanie takiego rodzaju żywności, powinny być udokumentowane oraz potwierdzone licznymi badaniami klinicznymi. Do najczęściej stosowanych bioaktywnych składników podczas produkcji żywności funkcjonalnej zalicza się m.in. błonnik pokarmowy, oligosacharydy, białka, aminokwasy czy peptydy. Ze względu na specyficzny skład takiej żywności wyróżnia się grupę żywności probiotycznej [Kraszewska i in. 2005].

Definicja probiotyku określa go jako preparat farmaceutyczny albo produkt żywnościowy zawierający w swoim składzie odpowiednią liczbę aktywnych oraz żywych mikroorganizmów, które po podaniu człowiekowi korzystnie wpływają na jego zdrowie [Kraszewska i in. 2005]. Ten wpływ jest widoczny głównie w działaniu przewodu pokarmowego, oddechowego, moczowo-płciowego oraz w jamie ustnej [Kołożyn-Krajewska 2001]. Dobroczynne oddziaływanie produktów, które zostały uznane za probiotyczne,

---

<sup>1</sup> Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, Wydział Nauk o Żywności i Biotechnologii, Studenckie Koło Naukowe Zarządzania Jakością i Bezpieczeństwem Żywności, skn.food.control@gmail.com

<sup>2</sup> Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, Wydział Nauk o Żywności i Biotechnologii, Katedra Technologii Surowców Pochodzenia Zwierzęcego, justyna.libera@up.lublin.pl

skupia się głównie na zmniejszaniu występowania różnego rodzaju biegunek, m.in. biegunek typu bakteryjnego, wirusowego, podróżnych czy poantybiotykowych. Do innych działań, do których przyczyniają się takie produkty, należą: zmniejszanie objawów nietolerancji laktozy, hamowanie wzrostu i rozwoju mikroorganizmów chorobotwórczych oraz stymulacja systemu odpornościowego [Kraszewska i in. 2005]. Korzystne zdrowotne działanie szczepów określa w szczególności aktywność przeciwdrobnoustrojowa oraz metaboliczna [Younes i in. 2012]. Natomiast aspekty technologiczne określają przede wszystkim przeżywalność oraz utrzymanie pożądanych właściwości mikroorganizmów w procesach przechowywania i dystrybucji, jak również zapewnienie cech organoleptycznych, tj. smaku i zapachu, akceptowalnych przez potencjalnego konsumenta [Sanders i in. 2014]. W Unii Europejskiej za ocenę oraz stałe monitorowanie bezpieczeństwa probiotyków odpowiada głównie Europejski Urząd Bezpieczeństwa Żywności (EFSA – *European Food Safety Authority*), a przepisy dotyczące dopuszczenia mikroorganizmu do użytku codziennego są bardzo restrykcyjne i wymagają przeprowadzenia licznych i bardzo kosztownych badań naukowych [Sionek i Kołożyn-Krajewska 2019]. Stosowanie probiotyków zależy w dużej mierze od grupy osób, które będzie je spożywała. W ocenie bezpieczeństwa wykorzystywania tych dobroczynnych mikroorganizmów uwzględnia się m.in. identyfikację wykorzystywanego drobnoustroju, jak również sposób jego podawania, poziom narażenia, stan zdrowia potencjalnego konsumenta czy cel stosowania [Sionek i Kołożyn-Krajewska 2019]. Wprowadzono także zasady stopniowej oceny probiotyków, do której należą np. identyfikacja wykorzystywanego szczepu, badania *in vitro* mające ocenić właściwości probiotyczne czy badania *in vivo* z udziałem zwierząt i ludzi, oceniające bezpieczeństwo stosowania i skuteczności.

Coraz częściej zarówno mikroorganizmy probiotyczne, jak i potencjalnie probiotyczne są składnikiem codziennej diety spożywanej przez osoby zdrowe. Probiotyki znalazły również zastosowanie u osób przewlekle chorych, a także podatnych na pojawienie się schorzeń, czy ludzi w podeszłym wieku, poprawiając swoim działaniem stan ich zdrowia [Sionek i Kołożyn-Krajewska 2019]. Badania kliniczne, które zostały przeprowadzone na szeroką skalę, wskazują, że działanie probiotyków wpływa korzystnie na zdrowie oraz pomaga w schorzeniach układu pokarmowego, np. w syndromie jelita drażliwego, zapaleniu jelit czy biegunce. Łagodzą one także schorzenia alergiczne, m.in. atopowe zapalenie skóry [Nowak i in. 2010].

Asortyment produktów probiotycznych jest bardzo szeroki i dostosowany do określonych preferencji oraz indywidualnych potrzeb konsumentów. Jeden z przykładów to produkty przemysłu mleczarskiego, które są najczęściej wzbogacane w różne rodzaje szczepów bakterii probiotycznych i ze względu na swoje cenne właściwości żywieniowe są powszechnie dostępne na rynku. W ostatnich latach można zaobserwować bardzo intensywny rozwój produkcji nowych rodzajów żywności fermentowanej, co jest spowodowane przede wszystkim rosnącą świadomością znaczenia układu mikroflory jelitowej. Bakterie fermentacji mlekowej są wykorzystywane przede wszystkim przy produkcji fermentowanych produktów mleczarskich, kiszonek warzywnych, chleba, przetworów mięsnych, ryb, zbóż, żywności orientalnej. Są to produkty zarówno pochodzenia zwierzęcego, typu „bio” z mleka, jak i roślinne, np. „biosoki” z buraków czy marchwi. Do ich produkcji oraz fermentacji wykorzystuje się specjalnie wyselekcjonowane oraz udokumentowane szczepy bakterii fermentacji mlekowej, które mają właściwości probiotyczne [Kołożyn-Krajewska 2001]. Podejmuje się również badania nad opracowaniem funkcjonalnych i sensorycznie akceptowanych nowych produktów roślinnych, które w swoim składzie będą zawierały bakterie z rodzaju probiotycznych. Trwają także badania nad

aplikowaniem wyselekcjonowanych szczepów do soków oraz przecierów z różnego rodzaju gatunków owoców oraz warzyw.

W obecnych czasach przeprowadza się wiele badań, które mają na celu m.in. wykorzystanie bakterii probiotycznych w produkcji żywności. Niestety tylko nieliczne z tych produktów pojawiają się na półce w sklepie. Głównym tego powodem jest przede wszystkim brak dopracowanej metody produkcji, jak również małe zainteresowanie ze strony inwestorów oraz niekorzystne, nieakceptowalne przez konsumentów cechy organoleptyczne powstałych produktów. Mimo wszystko widać wyraźny postęp w tej dziedzinie, coraz częściej można zaobserwować wiele nowych artykułów probiotycznych – zarówno jogurtów, maślanek czy kefirów, ale również wiele deserów zawierających kawałki owoców, a także sery, kiszonki czy preparaty farmaceutyczne [Wasilewska i in. 2013]. Najczęściej probiotyki spotyka się w mlecznych napojach fermentowanych. Odgrywają one również bardzo istotną rolę podczas dojrzewania sera, m.in. nadając mu odpowiednie właściwości organoleptyczne. Nie dla wszystkich jednak takie produkty będą dostępne, gdyż w ich skład wchodzi np. laktoza oraz związki, które mogą wywoływać u niektórych osób objawy alergiczne [Toczek i Glibowski 2015]. Obecnie do produkcji napojów fermentowanych stosuje się dodatek takich probiotyków, jak inulina czy oligofruktoza. Dodatki te są powszechnie wybierane przez producentów w celu lepszego wzrostu bakterii probiotycznych oraz utrzymania ich funkcji na odpowiednim poziomie. Bardzo popularnym produktem stały się lody, które zostały wzbogacone właśnie o tego rodzaju bakterie, ponieważ zachowują one właściwy dla tradycyjnych produktów smak, konsystencję oraz teksturę. Podczas produkcji tych specjalnych artykułów do mieszanki dodawane są bezpośrednio żywe kultury bakterii probiotycznych bądź mikrokapsułki, które zawierają określony szczep [Wasilewska i in. 2013].

Kolejną branżą, która oferuje produkty o specyficznych zaletach prozdrowotnych, jest branża mięsna. Naukowcy udowodnili, że istnieje możliwość wyprodukowania surowo dojrzewających produktów mięsnych z udziałem bakterii probiotycznych, jednak proces ten jest trudny [Wójciak i in. 2017]. Technologia taka wymaga jednak doboru odpowiedniego szczepu monokultury startowej, liczby tych bakterii oraz sposobu wprowadzania ich do mięsa, a następnie optymalizacji warunków prowadzenia procesu fermentacji [Libera i in. 2015].

Na półkach sklepowych pojawiają się oferty jogurtów naturalnych, pitnych, kefirów czy też napojów fermentowanych. Konsumenci jednak mają bardzo duży problem podczas wyboru takiego rodzaju produktu i często nie są w pełni poinformowani o tym, czy dane artykuły spełniają kryteria żywności probiotycznej. Wynika to przede wszystkim z braku informacji na temat danych, które powinny znaleźć się na etykiecie owych produktów spożywczych.

Celem niniejszego badania była ocena asortymentu probiotycznych produktów na bazie mleka, dostępnych na lokalnym rynku. W doświadczeniu wykorzystano sześć produktów probiotycznych, w tym trzy jogurty naturalne oraz trzy napoje mleczne.

### **Material badawczy**

Material badawczy stanowiło sześć produktów probiotycznych zakupionych w lubelskim hipermarkecie, w tym trzy jogurty naturalne:

- 0% tłuszczu (Bakoma),
  - Calpro (OSM Krasnystaw),
  - Yoghurt Natural (Tesco, Polska)
- oraz trzy napoje fermentowane na bazie mleka:
- Actimel (Danone),
  - Yoghurt drink (Tesco, Polska),
  - Aktiplus (Biedronka).

## **Metody badawcze**

### **Ocena opakowania jednostkowego oraz poprawności informacji na etykiecie**

Zweryfikowano informacje o produkcie poprzez analizę etykiety na zgodność z obowiązującym prawem żywnościowym wg Rozporządzenia UE nr 1169/2011. Sprawdzono, czy na etykiecie umieszczono następujące informacje: nazwę produktu, skład recepturowy, w tym nazwę probiotyku, alergeny, wartość odżywczą, masę netto, datę trwałości produktu, warunki przechowywania oraz dane producenta.

### **Liczba bakterii kwaszących typu mlekowego**

Do oznaczenia liczby bakterii kwaszących typu mlekowego wykorzystano metodykę zaproponowaną przez Polską Normę (PN-ISO 15214:2002). Liczbę bakterii oznaczono dwukrotnie: po otwarciu opakowania oraz po siedmiu dniach przechowywania produktu lodówce.

### **Liczba drobnoustrojów określających poziom higieny**

Oznaczono liczbę mezofilnych drobnoustrojów tlenowych (w oparciu o normę PN-EN ISO 4833-1:2013-12) oraz liczbę bakterii z rodziny *Enterobacteriaceae* (w oparciu o normę PN-ISO 21528-2:2005). Liczbę bakterii oznaczono dwukrotnie: po otwarciu opakowania oraz po siedmiu dniach przechowywania produktu lodówce.

### **Ocena sensoryczna metodą profilowania QDA**

Zasada metody profilowania QDA (ang. *quantitative descriptive analysis*) polega na ujęciu atrybutów sensorycznych jako cech wieloskładnikowych i zakłada, że stanowią one zbiór elementarnych cech jednostkowych, które można rozróżnić, zidentyfikować, zdefiniować, a także określić intensywność każdej z nich. Wykorzystywana jest do jakościowego oraz ilościowego określenia kompleksowej i szczegółowej charakterystyki produktu. Ocena sensoryczną wykonało 10 osób dla każdego z produktów. Narzędziem badawczym była skala liniowa niestrukturowana o długości 680 mm z odpowiednimi oznaczeniami brzegowymi. Oceniający nanosili na skalę pionową kreskę w miejscu odpowiadającym odniesionemu wrażeniu. Dokonano oceny następujących cech jakościowych dla wszystkich produktów: barwa, zapach, konsystencja, smak, smakowitość oraz ocena jakości ogólnej. Dla napojów fermentowanych z mleka oceniono gęstość, gładkość oraz kwaśność.

## Ocena statystyczna

Zebrane wyniki badań poddano analizie statystycznej. Do wnioskowania przyjęto poziom istotności  $\alpha = 0,05$ . Cechy analizowano za pomocą analizy wariancji poszerzonej o analizę typu *post-hoc* w postaci grup jednorodnych opartych na teście Tukeya.

## Wyniki badań

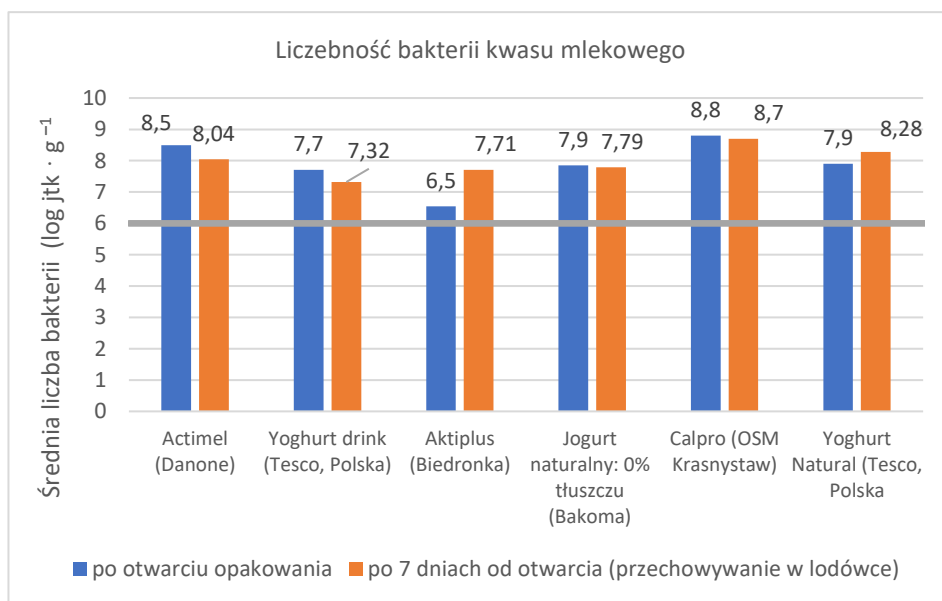
Wszystkie artykuły spożywcze zawierały określone elementy, które powinny znajdować się na etykiecie według Rozporządzenia UE nr 1169/2011 (tab. 1). Odnośnie do informacji o bakteriach probiotycznych – tylko niektóre badane produkty miały podane wymagane nazwy, czyli rodzaj, gatunek oraz symbol szczepu mikroorganizmu sklasyfikowany jako probiotyczny. Określone pełne nazwy bakterii zawierały następujące produkty: jogurt naturalny 0% tłuszczu (Bakoma) – *Bifidobacterium* BB-12, jogurt Calpro (OSM Krasnystaw) – *Lactobacillus acidophilus* LA-5 i *Bifidobacterium* BB-12, Activia (Danone) – *Bifidobacterium* CNCMI-2494, Actimel (Danone) – *Lactobacillus casei* CNCMI-1518, Aktiplus (Biedronka) – *L. acidophilus* LA-5 i *Bifidobacterium* BB-12. Po przeprowadzonej wizualnej ocenie zapakowania oraz zamknięcia produktów stwierdzono odpowiednią szczelność opakowań. Odnośnie do jogurtów pitnych oraz napojów fermentowanych na bazie mleka stwierdzono dobrą ochronę, gdyż materiałem opakowaniowym była butelka PET.

Tabela 1. Informacje zawarte na etykiecie badanych produktów

Informacja na etykiecie	Jogurty naturalne			Napoje fermentowane		
	0% tł. (Bakoma)	Calpro (OSM Krasnystaw)	Yoghurt Natural (Tesco)	Actimel (Danone)	Yoghurt drink (Tesco)	Aktiplus (Biedronka)
Skład recepturowy	+	+	+	+	+	+
Wyszczególnienie alergenów	+	+	+	+	+	+
Informacje o probiotyku	+	+	+	+	+	+
Masa netto	+	+	+	+	+	+
Data trwałości	+	+	+	+	+	+
Warunki przechowywania	+	+	+	+	+	+
Wartość odżywcza	+	+	+	+	+	+
Dane producenta	+	+	+	+	+	+

Zgodnie z wytycznymi WHO/FAO (2002) minimalna koncentracja żywych bakterii probiotycznych w 1 g lub 1 ml produktu wynosi 6,0 log jtk w całym okresie przydatności

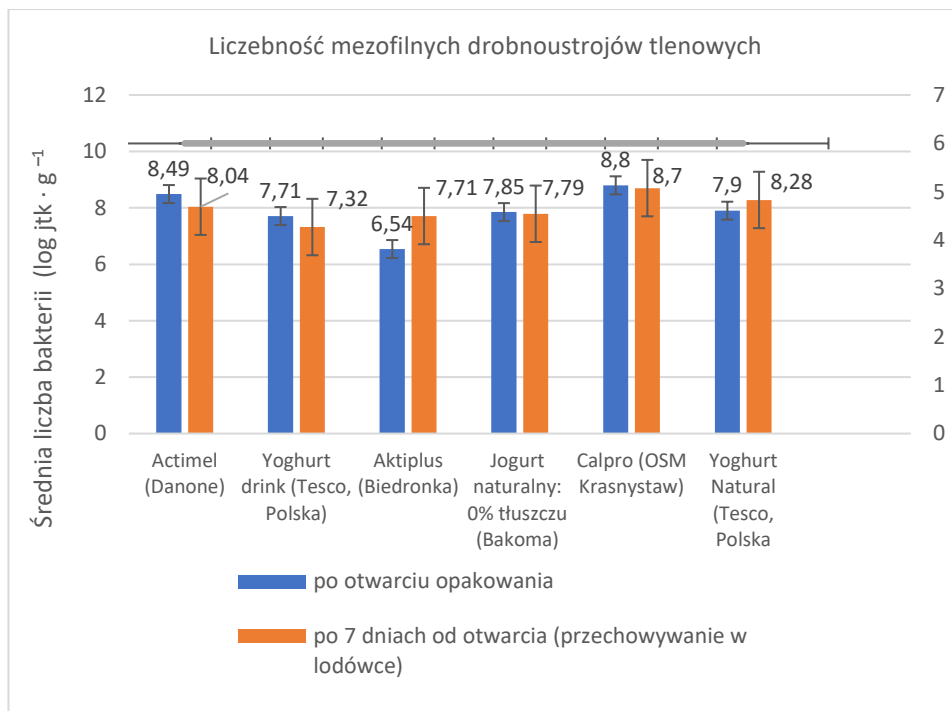
produktu do spożycia (oznaczenie szarą linią na ryc. 1). Wszystkie badane produkty zawierały wymaganą liczbę bakterii kwasu mlekowego, a wartość ta była stała podczas 7-dniowego przechowywania otwartego pojemnika w lodówce. Istotną ( $p \leq 0,05$ ) redukcję liczebności bakterii kwaszących typu mlekowego, po tygodniowym okresie przechowywania, stwierdzono w jogurcie pitnym Activia (Danone), a wyniosła ona 0,5 rzędu logarytmicznego. Największą średnią liczbę bakterii kwasu mlekowego po otwarciu zawierał jogurt Calpro (OSM Krasnystaw), która odpowiednio wynosiła  $8,8 \log \text{ jtk/g} \pm 0,1 \log \text{ jtk/g}$  i pozostała stabilna podczas przechowywania produktu w lodówce. Najmniejszą liczebnością badanych bakterii odznaczał się napój fermentowany Aktiplus (Biedronka), gdzie stwierdzono zaledwie  $6,54 \log \text{ jtk/g}$ . Natomiast po siedmiu dniach od otwarcia opakowania i przechowywania w lodówce największy spadek liczebności bakterii zaobserwowano dla napojów Actimel (Danone) i Yoghurtu drink (Tesco). Zaś największy wzrost liczby bakterii odnotowano w napoju Aktiplus (Biedronka), aż o 1 rząd logarytmiczny.



Ryc. 1. Liczebność bakterii kwasu mlekowego po otwarciu opakowania i po siedmiu dniach od otwarcia opakowania (przechowywanie w lodówce) badanych produktów

Zgodnie z wytycznymi Dyrektywy UE 92/46/EEC dla mleka i produktów mlecznych całkowita liczba drobnoustrojów w produktach przeznaczonych do konsumpcji nie powinna przekraczać 10 log jednostek tworzących kolonie w 1 ml lub 1 g (oznaczenie szarą linią na rycinie 2). Wszystkie badane produkty – po bezpośrednim otwarciu oraz po tygodniowym okresie przechowywania w lodówce ( $4^{\circ}\text{C}$ ) – uzyskały mniejszą średnią liczbę mezofilnych bakterii tlenowych. W żadnej z analizowanych prób nie stwierdzono obecności bakterii z rodziny *Enterobacteriaceae*, co wskazuje na bardzo dobrą jakość higieniczną badanych produktów probiotycznych. Największą liczbę mezofilnych drob-

noustrojów tlenowych wśród jogurtów po otwarciu opakowania zaobserwowano w jogurcie Calpro (OSM Krasnystaw), zaś najmniejszą w jogurcie Activia (Danone). W próbkach: jogurt 0% tł. (Bakoma), Yoghurt Natural (Tesco) oraz Activia (Danone) nie stwierdzono ( $p \leq 0,05$ ) zmiany liczby mezofilnych bakterii tlenowych podczas 7-dniowego przechowywania próbek w otwartych pojemnikach w lodówce.



Ryc. 2. Liczebność mezofilnych bakterii tlenowych po otwarciu opakowania i po siedmiu dniach od otwarcia opakowania (przechowywanie w lodówce) badanych produktów

Z przeprowadzonej analizy sensorycznej wynika, że jogurty naturalne charakteryzowały się białą barwą, naturalnym zapachem, gęstą konsystencją, jednolitą gładkością oraz kwaśnym smakiem. Smakowość produktów jest pożądana, a kwaśność wyczuwalna. Ogólna jakość oceniona została na bardzo dobrą.

Analizując napoje fermentowane Actimel (Danone) i Yoghurt drink (Tesco), zaobserwowano, że charakteryzowały się kremową barwą, zapachem innym niż naturalny, płynną konsystencją, małą gęstością, smakiem słodkim o wyczuwalnej kwasowości, pożądaną smakowością. Napój fermentowany Aktiplus (Biedronka) miał barwę białą, naturalny zapach, płynną konsystencję, małą gęstość, jednolitą gładkość, słodki smak o niewyczuwalnej kwasowości, pożądaną smakowość. Wszystkie napoje probiotyczne oceniono notą ogólną bardzo dobrą.



## Podsumowanie

Po przeprowadzonych badaniach stwierdzono, że wszystkie badane produkty probiotyczne dostępne na lokalnym rynku posiadały odpowiednią jakość pod względem organoleptycznym i mikrobiologicznym. Wszystkie zawierały też minimalną koncentrację żywych bakterii w porcji produktu, ustaloną przez WHO/FAO (2002), wynoszącą nie mniej niż 6,0 log jednostek tworzących kolonie. Największą średnią liczebnością bakterii kwasu mlekowego po otwarciu charakteryzował się jogurt Calpro (OSM Krasnystaw), który zawierał 8,8 log jtk/ ml, oraz napój fermentowany Actimel (Danone), który miał około 8,5 log jtk/g. Najmniejszą liczbą odznaczał się napój fermentowany Aktiplus (Biedronka).

## Bibliografia

- Dyrektywa Rady 92-46-EEC z dnia 16 czerwca 1992 określająca zasady zdrowotne produkcji i wprowadzania na rynek mleka surowego, mleka poddanego obróbce termicznej oraz przetworów mlecznych. Dz.Urz. L 268, 14/09/1992 P. 0001–0032.
- Harper A., Naghibi M.M., Garcha D., 2018. The role of bacteria, probiotics and diet in irritable bowel syndrome. *Foods*. 7(2), 13. <https://doi.org/10.3390/foods7020013>
- Khare A., Thorat G., Bhimte A., Yadav V., 2018. Mechanism of action of prebiotic and probiotic. *J. Entomol. Zool. Studies*. 6(4), 51–53.
- Kołożyn-Krajewska D., 2001. Żywność probiotyczna w aspekcie bezpieczeństwa zdrowotnego. *Żywność*. 4(29), 93–104.
- Kraszewska J., Wzorek W., Sztando E., 2005. Wybrane właściwości probiotyczne szczepów *Lactobacillus plantarum* i możliwości ich wykorzystania w produkcji bioaktywnych napojów słodowych. *Acta Sci. Pol. Technol. Aliment.* 4(1), 27–38.
- Kubiszewska I., Robaczewska J., Januszewska M., Gackowska L., 2014. Bakterie kwasu mlekowego i zdrowie: czy probiotyki są bezpieczne dla człowieka? *Post. Hig. Med. Dosw.* 68, 1325–1334.
- Libera J., Karwowska M., Stasiak D.M., Dolatowski Z.J., 2015. Microbiological and physicochemical properties of dry-cured neck inoculated with probiotic of *Bifidobacterium animalis* ssp. *Lactis* BB-12. *Int. J. Food Sci. Technol.* 50(7), 1560–1566.
- Nowak A., Śliżewska K., Libudzisz Z., Socha J., 2010. Probiotyki – efekty zdrowotne. *Żywn. Nauka. Technol. Jakość*. 4(71), 20–36.
- PN-ISO 15214:2002. Mikrobiologia żywności i pasz – Horyzontalna metoda oznaczania liczby mezofilnych bakterii fermentacji mlekowej. Metoda płytkowa w temperaturze 30°C.
- PN-ISO 21528-2:2005. Mikrobiologia żywności i pasz – Horyzontalna metoda wykrywania i oznaczania liczby Enterobacteriaceae. Część 2: Metoda płytkowa w temp. 37°C.
- PN-ISO 4833-1:2013-12. Mikrobiologia łańcucha żywnościowego – Horyzontalna metoda oznaczania liczby drobnoustrojów. Część 1: Oznaczanie liczby metodą posiewu zalewowego w temperaturze 30°C.
- Rozporządzenie Parlamentu Europejskiego i Rady (UE) nr 1169/2011 z dnia 25 października 2011 r. w sprawie przekazywania konsumentom informacji na temat żywności, zmiany rozporządzeń Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) nr 1924/2006 i (WE) nr 1925/2006 oraz uchylenia dyrektywy Komisji 87/250/EWG, dyrektywy Rady 90/496/EWG, dyrektywy Komisji 1999/10/WE, dyrektywy 2000/13/WE Parlamentu Europejskiego i Rady, dyrektyw Komisji 2002/67/WE i 2008/5/WE oraz rozporządzenia Komisji (WE) nr 608/2004.
- Sanders M.E., Lenoir-Wijnkoop I., Salminen S., Merenstein D.J., Gibson G.R., Petchow G.W., Nieuwdorp N., Tancredi D.J., Cifelli C.J., Jacques P., Pot B., 2014. Probiotics and prebiotics:

- Prospects for public health and nutritional recommendations. *Ann. New. York Acad. Sci.* 1309(1), 19–29. <https://doi.org/10.1111/nyas.12377>
- Sionek B., Kołożyn-Krajewska D., 2019. Bezpieczeństwo stosowania probiotyków przez ludzi. *Żywn. Nauka Technol. Jakość.* 26, 3(120), 5–21. <https://doi.org/10.15193/zntj/2019/120/293>
- Sionek B., Kołożyn-Krajewska D., Pasternok I., 2014. Przeżywalność bakterii o właściwościach probiotycznych w kielbasach surowo dojrzewających w czasie chłodniczego przechowywania. *Żywn. Nauka Technol. Jakość* 1(92), 103–113. <https://doi.org/10.15193/zntj/2014/92/103-113>
- Toczek K., Glibowski P., 2015. Bakterie probiotyczne w żywności nowe kierunki stosowania. *Przem. Spoż.* 69(3), 42–45.
- Wasilewska E., Złotkowska D., Pijagin M.E., 2013. Rola mikroflory jelitowej i bakterii probiotycznych w profilaktyce i rozwoju raka jelita grubego. *Post. Hig. Med. Dosw.* 67, 837– 847.
- Wójciak K.M., Libera J., Stasiak D.M., Kołożyn-Krajewska D., 2017. Technological aspect of *Lactobacillus acidophilus* Bauer, *Bifidobacterium animalis* BB-12 and *Lactobacillus rhamnosus* LOCK900 USE in dry-fermented pork neck and sausage. *J. Food Proc. Preserv.* 41(3), e12965. <https://doi.org/10.1111/jfpp.12965>
- Younes J.A., van der Mei H.C., van den Heuvel E., Bussher H.J., Reid G., 2012. Adhesion forces and coaggregation between vaginal staphylococci and lactobacilli. *PLoS One.* 7(5), 36917. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0036917>
- Zaremba A., 2015. Dobrodziejstwa probiotyków i prebiotyków. *Świat Przem. Farmaceut.* 2, 58–63.

## Warunki obsługi konsumenta w obiektach gastronomicznych na podstawie arkusza oceny i testów wskaźnikowych

Conditions of customer service practice in relation to food safety on the basis of the evaluation sheet and indicator tests

W ostatnich latach w Polsce można zaobserwować rosnącą tendencję do spożywania posiłków poza domem. Oferowane usługi gastronomiczne obejmują coraz szerszy zakres, jak również coraz większą grupę klientów. Współcześni konsumenci oczekują od usług gastronomicznych nie tylko zaspokojenia podstawowych potrzeb żywieniowych, ale także stworzenia możliwości do spędzania czasu wolnego, odpoczynku, rozrywki, psychicznej regeneracji sił czy powstawania więzi towarzyskich [Grębowiec 2018, El Kadmiri i in. 2016]. Lokale gastronomiczne, zwłaszcza restauracje, coraz częściej są miejscem, gdzie Polacy przenoszą dużą część swojego życia społecznego. Kluczowym czynnikiem gwarantującym sukces przedsiębiorstw gastronomicznych jest wysoki poziom obsługi [Cieślak i in. 2014]. Klienci wskazują, że głównym powodem zniechęcającym do odwiedzenia placówki żywienia jest brak czystości w lokalu. Brak zainteresowania ze strony obsługi i niekulturalne jej zachowanie również są niepożądane.

Higiena procesu sprzedaży obejmuje oprócz wymagań sanitarnych, które dotyczą warunków przechowywania, produkcji i sprzedaży, także przestrzeganie zasad higieny przez personel obsługi. Ważnym elementem, jednym z wielu dotyczących jakości obsługi, jest wygląd personelu pierwszego kontaktu [Barber i in. 2011]. Osoby pracujące w procesie produkcji lub obrotu żywnością muszą przestrzegać higieny osobistej, nosić właściwą, czystą odzież oraz, jeżeli to niezbędne, obuwie robocze, a także stosować wymagane środki ochrony indywidualnej. Oprócz prezentacji kelnerskiej drugim ważnym aspektem jest utrzymanie w nienagannych warunkach lokalu i wyposażenia. Estetyka obiektu gastronomicznego jest czynnikiem, który może przekonać potencjalnego konsumenta do standardów panujących w danym zakładzie gastronomicznym. Struktura budynku oraz wnętrza lokalu, a przede wszystkim dekoracja i czystość oddziałują na atrakcyjność proponowanych usług [Ryu i Han 2011]. Regularne przeprowadzanie zabiegów higienizacyjnych jest podstawą do zapewnienia bezpieczeństwa zdrowotnego oferowanych posiłków [Gressel 2015].

Celem niniejszych badań była ocena warunków przy obsłudze klienta w obiektach gastronomicznych na podstawie arkusza ocen oraz testów wskaźnikowych.

---

<sup>1</sup> Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, Wydział Nauk o Zwierzętach i Biogospodarki, magdalena.stobiecka@student.up.edu.pl

## Material i metody badań

Badania zostały przeprowadzone w 15 zakładach gastronomicznych na terenie Lublina, tj. w 5 restauracjach, 5 kawiarniach oraz 5 barach typu *fast food*. Przed przystąpieniem do badań uzyskano zgodę kierownictwa zakładów na zebranie materiału empirycznego. Badania przeprowadzono w dwóch sezonach, tj. zimowym (od listopada do lutego) – termin 1., i letnim (od maja do sierpnia 2019 r.) – termin 2. Narzędziem zastosowanym w pracy badawczej był arkusz oceny, który został podzielony na trzy części. Ocenie podlegały następujące elementy:

- wnętrze zakładu gastronomicznego (tj. czystość ścian, podłogi, krzeseł oraz stolików, elementów dekoracyjnych czy przyprawników),
- wygląd zewnętrzny obsługi, np. czy kelner/ka wygląda schludnie, czy ma odpowiedni strój oraz obuwie, a także neutralny makijaż bądź zakryte tatuaże,
- zastawa stołowa, na której zostało podane danie i sztucce.

Ustalono 4-stopniową skalę (0–3) odnoszącą się do poziomu czystości:

- niedostateczny – 0 pkt,
- dostateczny – 1 pkt,
- dobry – 2 pkt,
- bez zastrzeżeń – 3 pkt.

Kolejnym narzędziem badawczym były testy wskaźnikowe firmy Orion Clean Card® PRO. Testy Orion Clean Card® PRO są testami nowej generacji, które pozwalają monitorować efektywność procesów mycia na różnego rodzaju powierzchniach. Test wykrywa pozostałości białkowe, których obecność wskazuje na niewystarczającą czystość. Za jego pomocą sprawdzono obecność zanieczyszczeń białkowych na różnych podłożach. W przypadku restauracji i kawiarni były to: karty menu, stoliki i elementy zastawy (szklanka/widelec/łyżka/talerzyk), zaś w barach typu *fast food* – tacki i stoliki. Badania wykonano w dwóch powtórzeniach. Każdy z testów zaopatrzonej jest w kartę zaimpregnowaną odczynnikiem. Pole reakcyjne znajduje się pod perforowaną częścią karty. Kiedy białka wejdą w reakcję z polem testowym, obserwowana jest widoczna zmiana koloru z jasnożółtego na zielony bądź niebieski.

Tak jak w przypadku arkusza oceny posłużono się 4-stopniową skalą:

- brak zanieczyszczeń białkowych – 3 pkt,
- znikoma obecność zanieczyszczeń białkowych – 2 pkt,
- obecność zanieczyszczeń białkowych – 1 pkt,
- obecność zanieczyszczeń białkowych, poziom niedostateczny – 0 pkt.

Sumując powyższe punkty, przyjęto następujący poziom czystości dla restauracji i kawiarni:

- bardzo wysoki: 9,
- wysoki: 7–8,
- średni: 5–6,
- niski:  $\leq 4$ .

Natomiast dla barów typu *fast food*:

- bardzo wysoki: 6,
- wysoki: 4–5,
- średni: 3,
- niski:  $\leq 2$ .

Uzyskane wyniki poddano analizie statystycznej. Wyliczono również współczynniki korelacji Pearsona w celu określenia zależności między poziomem czystości wizualnej a poziomem czystości określonej za pomocą testów wskaźnikowych, korzystając ze wzoru:

$$r_{xy} = \frac{\sum_{i=1}^N (x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})}{n \cdot s(x) \cdot s(y)}$$

gdzie:

$r_{xy}$  – korelacja między zmiennymi,

$x_i$  – wartość zmiennej x,

$\bar{x}$  – średnia wartość zmiennych x,

$y_i$  – wartość zmiennej y,

$\bar{y}$  – średnia wartość zmiennych y,

n – liczebność próby,

$s(x)$  – odchylenie standardowe poszczególnych wyników zmiennej x od średniej,

$s(y)$  – odchylenie standardowe poszczególnych wyników zmiennej y od średniej.

## Omówienie wyników

### Omówienie wyników arkusza oceny w obiektach gastronomicznych

Priorytetem dla nowoczesnego właściciela czy kierownika zakładu powinno być właściwe zorganizowanie usług, jak również zapewnienie bezpieczeństwa zdrowotnego oferowanych potraw. Niestety w polskiej gastronomii we wszystkich tych aspektach stwierdza się jeszcze wiele nieprawidłowości [Bai i in. 2019]. Według badań przeprowadzonych przez Cieślak i in. [2014] ponad połowa (68%) respondentów zwraca uwagę na czystości odwiedzanego zakładu gastronomicznego. W dalszej kolejności dla ankietowanych liczą się wnętrza (19%) oraz zewnętrzny wygląd zakładu (13%).

W tabeli 1 przedstawiono ogólną analizę danych dotyczącą wizualnej oceny w restauracjach. We wszystkich trzech obszarach większość analizowanych parametrów była bez zarzutów. Z perspektywy wnętrza lokali zarówno w pierwszym, jak i drugim terminie najgorzej wypadła czystość podłóg oraz elementów dekoracyjnych. Średnia uzyskanych not dla czystości podłóg wynosiła 2,2 w pierwszym terminie i 2,0 w drugim, a dla elementów dekoracyjnych – 2,0 w obu terminach. Należy zaznaczyć, że w większości lokali gastronomicznych podłogi zmywa się najczęściej na końcu zmiany. Rzadko zdarza się natomiast, aby myto je między kolejnymi gośćmi. Jeśli natomiast zwrócimy uwagę na elementy dekoracyjne, zazwyczaj są one wysoko zawieszona, a utrzymanie ich na nienagannym poziomie wymaga od pracowników nie lada wyzwania.

Obserwując pracę obsługi kelnerskiej, najniżej oceniono ich wygląd; dotyczyło to przede wszystkim nieodpowiednich fryzur i noszonej biżuterii (średnio 2,0). Kelnerki w większości ocenianych restauracji miały rozpuszczone włosy, a noszona przez nie biżuteria była zbyt wyeksponowana. W dwóch przypadkach kelnerzy za bardzo eksponowali tatuaże na przedramionach.

Tabela 1. Wyniki z oceny warunków higienicznych w restauracjach

	Termin 1						Termin 2					
	Restauracja						Restauracja					
	I	II	III	IV	V	średnio	I	II	III	IV	V	średnio
<b>Lokal – wnętrze zakładu gastronomicznego</b>												
1. Czy ściany, okna, parapety zakładu gastronomicznego są czyste?	3	3	2	3	3	2,8 <sup>b</sup> ±0,4	2	2	2	3	2	2,2 <sup>a</sup> ±0,4
2. Czy podłogi są czyste? (bez zabrudzeń, zabłoceń, uszczerbków, okruchów)	2	2	3	2	2	2,2 ±0,4	2	2	2	2	2	2,0 ±0,0
3. Czy krzesła są czyste? (bez okruchów, bez plam na obiciach)	3	3	2	3	3	2,8 ±0,4	3	3	2	2	2	2,4 ±0,5
4. Czy stoły są czyste? (czy blaty i obrusy nie są poplamione)	3	3	2	3	3	2,8 <sup>b</sup> ±0,4	3	2	2	2	2	2,2 <sup>a</sup> ±0,4
5. Czy elementy dekoracyjne są czyste? (lampy, kwiaty, obrazy)	2	2	2	2	2	2,0 ±0,0	2	2	2	2	2	2,0 ±0,0
6. Czy pojemniki na przyprawy są czyste? (bez plam, czy są uzupełnione)	3	3	2	3	3	2,8 ±0,4	3	3	3	3	3	3,0 ±0,0
<b>Wygląd zewnętrzny kelnerki/kelnera</b>												
1. Czy obsługa ma czyste, schludne ubrania?	3	3	3	3	3	3,0 ±0,0	3	3	3	3	3	3,0 ±0,0
2. Czy obsługa ma odpowiedni strój do pracy?	3	3	3	3	3	3,0 ±0,0	3	3	3	3	3	3,0 ±0,0
3. Czy obsługa ma odpowiednie obuwie?	3	3	3	3	3	3,0 ±0,0	2	2	2	2	2	2,0 ±0,0
4. Czy obsługa ma czyste dłonie?	3	3	3	3	3	3,0 ±0,0	3	3	3	3	3	3,0 ±0,0
5. Czy obsługa ma odpowiedni makijaż?	3	3	2	3	3	2,8 ±0,4	3	3	3	3	3	3,0 ±0,0
6. Czy kelnerki mają spięte włosy, a kelnerzy są ogoleni?	2	2	2	2	2	2,0 ±0,0	2	2	2	2	2	2,0 ±0,0
7. Czy obsługa ma biżuterię?	2	2	2	2	2	2,0 ±0,0	2	2	2	2	2	2,0 ±0,0
8. Czy obsługa ma zakryte tatuaże?	3	2	3	2	3	2,6 ±0,5	3	2	2	3	3	2,6 ±0,5
<b>Zamówione danie</b>												
1. Czy posiłek był podany właściwie?	3	3	3	3	3	2,8 ±0,4	3	3	3	3	3	3,0 ±0,0
2. Czy zastawa, na której podane było danie czy napój, była czysta?	3	3	3	3	3	2,6 <sup>a</sup> ±0,5	3	3	3	3	3	3,0 <sup>b</sup> ±0,0
Ogólna liczba zebranych punktów	44	43	40	43	44	42,2 ±2,1	42	40	39	41	40	40,4 ±1,0

a, b – różnice pomiędzy terminami oceny, istotne przy  $p \leq 0,05$

Tabela 2. Wyniki z oceny warunków higienicznych w kawiarniach na podstawie arkusza ocen

	Termin 1						Termin 2					
	Kawiarnia						Kawiarnia					
	I	II	III	IV	V	średnio	I	II	III	IV	V	średnio
Lokal – wnętrze zakładu gastronomicznego												
1. Czy ściany, okna, parapety zakładu gastronomicznego są czyste?	2	3	3	3	3	2,8 <sup>b</sup> ±0,4	2	2	2	2	2	2,0 <sup>a</sup> ±0,0
2. Czy podłogi są czyste? (bez zabrudzeń, zabłoceń, uszczerbków, okruchów)	2	2	2	2	2	2,0 ±0,0	2	2	2	2	2	2,0 ±0,0
3. Czy krzesła są czyste? (bez okruchów, bez plam na obiciach)	3	3	3	3	3	3,0 <sup>B</sup> ±0,0	2	2	2	2	2	2,0 <sup>A</sup> ±0,0
4. Czy stoły są czyste? (czy blaty i obrusy nie są poplamione)	3	3	2	3	3	2,8 <sup>b</sup> ±0,4	2	2	2	2	2	2,0 <sup>a</sup> ±0,0
5. Czy elementy dekoracyjne są czyste? (lampy, kwiaty, obrazy)	2	2	2	2	2	2,0 ±0,0	2	2	2	2	2	2,0 ±0,0
6. Czy pojemniki na przyprawy są czyste? (bez plam, czy są uzupełnione)	3	3	3	3	3	3,0 <sup>B</sup> ±0,0	2	2	2	2	2	2,0 <sup>A</sup> ±0,0
Wygląd zewnętrzny kelnerki/kelnera												
1. Czy obsługa ma czyste, schludne ubrania?	3	3	3	3	3	3,0 ±0,0	3	3	3	3	3	3,0 ±0,0
2. Czy obsługa ma odpowiedni strój do pracy?	3	3	3	3	3	3,0 ±0,0	3	3	3	3	3	3,0 ±0,0
3. Czy obsługa ma odpowiednie obuwie?	3	3	3	3	3	3,0 <sup>B</sup> ±0,0	2	2	2	2	2	2,0 <sup>A</sup> ±0,0
4. Czy obsługa ma czyste dłonie?	3	3	3	3	3	3,0 ±0,0	3	3	3	3	3	3,0 ±0,0
5. Czy obsługa ma odpowiedni makijaż?	2	2	3	2	2	2,2 ±0,4	2	2	2	2	2	2,0 ±0,0
6. Czy kelnerki mają spięte włosy, a kelnerzy są ogoleni?	2	2	3	2	2	2,2 ±0,4	3	3	2	2	2	2,4 ±0,5
7. Czy obsługa ma biżuterię?	3	3	3	2	2	2,6 ±0,5	3	3	3	3	3	3,0 ±0,0
8. Czy obsługa ma zakryte tatuaże?	3	2	3	2	2	2,4 <sup>a</sup> ±0,5	3	3	3	3	3	3,0 <sup>b</sup> ±0,0
Zamówione danie												
1. Czy posiłek był podany właściwie?	3	3	3	3	3	3,0 ±0,0	3	3	3	3	3	3,0 ±0,0
2. Czy zastawa, na której podane było danie czy napój, była czysty?	3	3	3	3	3	3,0 ±0,0	3	3	3	3	3	3,0 ±0,0
Ogólna liczba zebranych punktów	43	43	45	42	42	43 ±1,0 <sup>b</sup>	40	40	39	39	39	39,4 ±0,5 <sup>a</sup>

A, B, a, b – różnice pomiędzy terminami oceny;: A, B – istotne przy  $p \leq 0,01$ , a, b – istotne przy  $p \leq 0,05$

Tabela 3. Wyniki z oceny warunków higienicznych w barach typu *fast food*

	Termin 1						Termin 2					
	Bar						Bar					
	I	II	III	IV	V	średnio	I	II	III	IV	V	średnio
Lokal – wnętrze zakładu gastronomicznego												
1. Czy ściany, okna, parapety zakładu gastronomicznego są czyste?	3	3	3	3	3	3,0 ±0,0	3	2	3	3	2	2,8 ±0,4
2. Czy podłogi są czyste? (bez zabrudzeń, zabłoceń, uszczerbków, okruchów)	2	2	2	2	2	2,0 ±0,0	2	2	2	2	2	2,0 ±0,0
3. Czy krzesła są czyste? (bez okruchów, bez plam na obiciach)	3	2	3	3	3	3,0 ±0,0	2	2	2	2	2	3,0 ±0,0
4. Czy stoły są czyste? (czy blaty i obrusy nie są poplamione)	2	2	2	2	2	2,8 ±0,4	2	2	2	2	2	2,8 ±0,4
5. Czy elementy dekoracyjne są czyste? (lampy, kwiaty, obrazy)	2	2	3	3	3	2,0 ±0,0	2	2	2	2	2	2,0 ±0,0
6. Czy pojemniki na przyprawy są czyste? (bez plam, czy są uzupełnione)	3	3	3	3	3	3,0 ±0,0	3	3	3	3	3	3,0 ±0,0
Wygląd zewnętrzny kelnerki/kelnera												
1. Czy obsługa ma czyste, schludne ubrania?	3	3	3	3	3	3,0 ±0,0	3	3	3	3	3	3,0 ±0,0
2. Czy obsługa ma odpowiedni strój do pracy?	3	3	3	3	3	3,0 ±0,0	3	3	3	3	3	3,0 ±0,0
3. Czy obsługa ma odpowiednie obuwie?	3	3	3	3	3	3,0 ±0,0	3	3	3	3	3	3,0 ±0,0
4. Czy obsługa ma czyste dłonie?	3	3	3	3	3	3,0 ±0,0	3	3	3	3	3	3,0 ±0,0
5. Czy obsługa ma odpowiedni makijaż?	3	3	3	3	3	3,0 ±0,0	3	3	3	3	3	3,0 ±0,0
6. Czy kelnerki mają spięte włosy, a kelnerzy są ogoleni?	3	2	2	3	3	2,6 ±0,5	3	3	3	3	3	3,0 ±0,0
7. Czy obsługa ma biżuterię?	3	3	3	3	3	3,0 ±0,0	3	3	3	3	3	3,0 ±0,0
8. Czy obsługa ma zakryte tatuaże?	3	2	2	3	3	2,6 ±0,5	3	3	3	3	3	3,0 ±0,0
Ogólna liczba zebranych punktów	39	36	38	40	40	38,6 ±1,5	38	37	38	38	37	37,6 ±0,5

Zasadniczym etapem warunkującym czystość i bezpieczeństwo zdrowotne jest mycie naczyń i sztućców z odpowiednim dodatkiem detergentów, przy zachowaniu właściwych temperatur mycia i wyparzenia [Kautsch 2010]. We wszystkich restauracjach używana zastawa i szkło były czyste oraz bez żadnych uszczerbków. W ogólnej ocenie punktowej najlepiej wypadły restauracje I i V, uzyskując w sumie 44 pkt na 48 możliwych. Najgorzej oceniono restaurację III, która w ogólnym rankingu uzyskała 40 pkt. Należy zauważyć, że w drugim terminie żadna z restauracji nie utrzymała jakości, gdyż uzyskano niższe wyniki w porównaniu z terminem 1. Niższe wyniki uzyskane w terminie 2. (sezon



letni) świadczą o mniejszym zaangażowaniu pracowników w czystość pomieszczeń, co można łączyć z pełnią sezonu turystycznego podczas badań.

W przypadku kawiarni (tab. 2) sytuacja wyglądała podobnie jak w restauracjach. W pierwszym terminie badań jedynym mankamentem w przypadku charakterystyki wnętrza lokalu były podłogi i elementy dekoracyjne. Niestety w drugim terminie badań czystość wszystkich elementów wnętrza lokalu (ściany, podłogi krzesła, elementy dekoracyjne czy przyprawniki) oceniono zdecydowanie gorzej (średnio 2,0).

Analizując wygląd obsługi, zauważono analogiczną sytuację jak w restauracjach. Zarówno w pierwszym, jak i w drugim terminie kelnerki w większości lokali miały rozpuszczone włosy, niestosowny makijaż oraz nieodpowiednią biżuterię, co nie pasowało do standardów kawiarni. W kilku przypadkach kelnerzy nie mieli zakrytych tatuaży. W obydwu terminach nie było zarzutów do sposobu podawania dań i czystości zastawy stołowej.

Spośród kawiarni w ogólnej punktacji największą liczbę punktów uzyskała kawiarnia III – 45 pkt. Tak jak w przypadku restauracji, w drugim terminie badań stwierdzono niższe ogólne noty punktowe dla wszystkich kawiarni, co było związane głównie z czystością elementów wnętrza lokalu.

W tabeli 3 przedstawiono wyniki dla barów typu *fast food*. W tym przypadku analizie poddano jedynie dwa parametry – wnętrze lokalu oraz wygląd zewnętrzny kelnera/kelnerki. Podłogi oraz stoły były „nie pierwszej czystości”. Można zatem stwierdzić, że w tego typu lokalach liczy się bardziej szybkość przyrządzania dań niż dbałość o czystość sali (średnia uzyskanych not w dwóch terminach to 2,0). Jeśli natomiast zwrócić uwagę na wygląd obsługi, w większości była ona bez zarzutów, na co wskazuje liczba punktów (średnio 3,0). Jedynie w dwóch przypadkach panowie posiadali kilkudniowy zarost oraz widoczne tatuaże na przedramieniu.

W ogólnej skali punktowej (36–40) poziom utrzymania higieny w barach typu *fast food* był wysoki zarówno na Sali, jak i wśród personelu. Świadczy to o przestrzeganiu zasad panujących w tego rodzaju lokalach gastronomicznych.

### **Omówienie wyników oceny czystości lokali przeprowadzonych za pomocą testów wskaźnikowych Orion Clean Card®**

Analizując dane zawarte w tabeli 4, można stwierdzić, że obsługa kelnerska w restauracjach w dużej mierze zwraca uwagę na czystość zastawy, tj. szkła, talerzyków czy sztućców. Niestety nie można tego powiedzieć o czystości stolików, a przede wszystkim kart menu. W restauracjach II i III stwierdzono obecność zanieczyszczeń białkowych na powierzchniach stolików zarówno w pierwszym, jak i w drugim terminie badań. W przypadku pozostałych obiektów obecność zanieczyszczeń zanotowano w terminie 2. Karty menu w obiektach gastronomicznych to jedno z najczęściej używanych materiałów zarówno przez personel, jak i klienta. Karta dość często jest pomijana w procesie mycia. Badania przeprowadzone przez Choi i in. [2014] pokazują, że menu w obiektach gastronomicznych jest często pomijane przy myciu, na co wskazują również wyniki badań własnych. Odczytane wyniki zarówno w pierwszym, jak i w drugim terminie wskazują na 100-proc. zabrudzenie kart menu. Świadczyć to może o tym, że obsługa nie przywiązuje

większej uwagi do higieny, wykonując swoją pracę pobieżnie. W analizie punktowej najlepszy poziom czystości względem zanieczyszczeń białkowych uzyskano w restauracji I (1. termin – 6 pkt, 2–5 pkt). Najniższe noty (3 pkt) uzyskała restauracja III w obu terminach oraz II w terminie 1.

Tabela 4. Punkty przyznane restauracjom na podstawie wyników z testu na obecność zanieczyszczeń

Restauracja	Termin	Menu	Stolik	Zastawa	Ogólna liczba zebranych punktów
I	1	1	2	3	6
	2	1	1	3	5
II	1	0	1	2	3
	2	0	1	3	4
III	1	0	1	2	3
	2	0	1	2	3
IV	1	0	2	2	4
	2	1	1	3	5
V	1	0	2	3	5
	2	1	1	3	4

Tabela 5. Punkty przyznane kawiarniom na podstawie wyników z testu na obecność zanieczyszczeń

Kawiarnia	Termin	Menu	Stolik	Zastawa	Ogólna liczba zebranych punktów
I	1	1	2	3	6
	2	0	0	3	3
II	1	0	2	3	5
	2	0	0	3	3
III	1	1	1	3	5
	2	1	0	3	4
IV	1	1	1	3	5
	2	0	0	3	3
V	1	1	1	3	5
	2	0	0	3	3

Oceniając czystość na podstawie testów wskaźnikowych w kawiarniach (tab. 5), zauważono, że podobnie jak w restauracjach najbardziej zanieczyszczone okazały się karty menu. Należy zauważyć, że bardziej zanieczyszczone były karty menu w terminie 2., co można łączyć z większą liczbą gości w tym okresie. W drugim terminie badań

również zanotowano brak czystości stolików we wszystkich pięciu kawiarniach udokumentowano w 100% pokrycie ich zanieczyszczeniami białkowymi. W sezonie zimowym (termin 1.) czystość stolików była zadowalająca, zanotowano jedynie znikomą obecność zanieczyszczeń białkowych. Warto zwrócić uwagę, że we wszystkich kawiarniach zastawa była nienaganna zarówno w pierwszym, jak i drugim terminie badań. W wyniku analizy skali punktowej kawiarnie w pierwszym terminie uzyskały bardzo dobre wyniki (5–6 pkt), niestety nie miało to odzwierciedlenia w drugim terminie (3–4 pkt).

W tabeli 6 przedstawiono wyniki testów przeprowadzone w barach typu *fast food*. W pierwszym terminie w większości obiektów tacki w niewielkim stopniu były zanieczyszczone (2 pkt), czego niestety nie dało się zauważyć w drugim terminie badań. W sezonie letnim żaden bar nie utrzymał czystości tacek, ich powierzchnie były całkowicie zanieczyszczone. Czystość stolików we wszystkich barach, niezależnie od terminu badań, była bardzo niska, na co wskazują uzyskane punkty, tj. 1 lub 0. Najbrudniejsze stoliki, które w całości pokryte były zanieczyszczeniami w obu terminach, znajdowały się w barze II. Należy zaznaczyć, że punkty przyznane barom typu *fast food* wskazują na niski poziom higieny w tych punktach gastronomicznych w porównaniu z restauracjami czy kawiarniami.

Tabela 6. Punkty przyznane barom typu *fast food* na podstawie wyników z testu na obecność zanieczyszczeń

Bar <i>fast food</i>	Termin	Tacka	Stolik	Ogólna liczba zebranych punktów
I	1	2	0	2
	2	0	1	1
II	1	2	0	1
	2	1	0	1
III	1	1	2	3
	2	0	1	1
IV	1	2	1	3
	2	1	1	2
V	1	2	1	3
	2	1	0	1

### Analiza korelacji badanych obiektów gastronomicznych

Należy zaznaczyć, że badania potwierdziły słuszność przyjętej hipotezy, że poziom czystości wizualnej w lokalach gastronomicznych jest zbieżny z oceną określoną za pomocą testów wskaźnikowych. Obliczone współczynniki korelacji były wysokie, od  $r = 0,69$  do  $r = 0,87$ , co wskazuje, że istnieją wysokie dodatnie korelacje pomiędzy oceną wizualną czystości lokali gastronomicznych a wynikami uzyskanymi przy pomocy testów wskaźnikowych (tab. 7).

Tabela 7. Wartości współczynników korelacji Pearsona (r) pomiędzy poziomem czystości wizualnej a poziomem czystości określonej za pomocą testów wskaźnikowych dla poszczególnych zakładów gastronomicznych w dwóch terminach badań

Wyszczególnienie	Termin 1	Termin 2
Restauracje	0,74 <sup>xx</sup>	0,69 <sup>xx</sup>
Kawiarnie	0,75 <sup>xx</sup>	0,76 <sup>xx</sup>
Bary typu <i>fast food</i>	0,87 <sup>xx</sup>	0,77 <sup>xx</sup>

<sup>xx</sup> – istotne przy  $p \leq 0,01$

## Wnioski

Analiza wyników pozwoliła sformułować podstawowy wniosek, że istnieje zbieżność oceny czystości zakładów gastronomicznych dokonanej wizualnie z oceną poziomu higieny określoną za pomocą testów wskaźnikowych, na co również wskazują wyliczone współczynniki korelacji. W przypadku większości analizowanych parametrów, tj. wnętrze zakładu, prezencja kelnerów oraz sposób serwowania potraw, nie zaobserwowano kluczowych odstępstw od wymagań. Niestety poziom higieny stolików, a przede wszystkim kart menu (restauracje i kawiarnie) i tacek (bary typu *fast food*), był bardzo niski zarówno w pierwszym, jak i w drugim terminie badań. Należy podkreślić, że niższy poziom higieny stwierdzono w barach szybkiej obsługi w porównaniu z restauracjami czy kawiarniami.

## Bibliografia

- Bai L., Wang M., Yang Y., Gong S., 2019. Food safety in restaurants: the consumer perspective. *Int. J. Hospit. Manag.* 70, 139–146.
- Barber N., Goodman R.J., Goh B.K., 2011. Restaurant consumers repeat patronage: a service quality concern. *Int. J. Hosp. Manag.* 30, 329–336.
- Choi J., Almanza B., Nelson D., Neal J., Sirsat S., 2014. A strategic cleaning assessment program: cleanliness of the menu at restaurants. *J. Environ. Health.* 76, 18–24.
- Cieślik E., Cieślik J., Wasilewski P., Turcza K., Siembida A., 2014. Ocena jakości usług gastronomicznych jako czynnik zwiększający zaufanie konsumentów. *J. Agribus. Rural Dev.* 3(33), 15–24.
- El Kadmiri N., Bakouri H., Bassir F., Barmaki S., Rachad L., Nadifi S., El Kadmiri O., Amina B., 2016. Food hygiene assessment in catering establishments in Hay Hassani district-Casablanca. *Pan Afr. Med. J.* 24, 335.
- Gressel A., 2015. Wszystko w porządku. *Now. Gastronom.* 9, 44–45.
- Grębowiec M., 2018. Czynniki wpływające na podejmowanie decyzji nabywczych przez konsumentów na rynku gastronomicznym. *Zesz. Nauk. Turyst. Rekreacja* 2(22), 39–52.
- Kautsch M., 2010. Czynniki warunkujące zachowania konsumenckie w ochronie zdrowia – wybrane zagadnienia. *Zesz. Nauk. Uniw. Szczecin.* 16, 235–245.
- Ryu K., Han H., 2011. New or repeat customers: how does Physical environment influence their restaurant experience?. *Int. J. Hospit. Manag.* 30(3), 591–611.

## Ocena przydatności do kiszenia owocników *Pleurotus pulmonarius*

Assessment of suitability for lactic acid fermentation the fruiting bodies of *Pleurotus pulmonarius*

Grzyby jadalne cieszą się dużą popularnością wśród konsumentów głównie ze względu na mięsistą konsystencję, przyjemny zapach i smak, a także z powodu korzyści zdrowotnych wynikających z wysokiej zawartości naturalnych związków bioaktywnych, często w wyższym stężeniu niż w roślinach [Sułkowska-Ziaja i in. 2012]. Owocniki grzybów zawierają niewielką ilość łatwo przyswajalnych węglowodanów, tłuszczu i energii, ale za to są zasobne w białko i błonnik pokarmowy [Cheung 2010]. Beta-glukany zawarte w owocnikach wspomagają kontrolę cukru i cholesterolu we krwi oraz działanie układu immunologicznego. Grzyby są również dobrym źródłem m.in. witamin (B, D), minerałów, związków fenolowych i lektyn, co sprawia, że doskonale nadają się do uzupełnienia codziennej diety. Składniki bioaktywne zawarte w owocnikach mogą mieć duże znaczenie w zapobieganiu rozwojowi wielu chorób, w tym raka i cukrzycy, dlatego niektóre gatunki są używane do produkcji suplementów diety [Jaworska i Bernaś 2009, Valverde i in. 2015].

Grzyby *Pleurotus* spp. (boczniki) są jednymi z najpopularniejszych gatunków uprawnych na świecie [Kalbarczyk i Radzki 2009]. Do tego rodzaju oprócz najpopularniejszego *P. ostreatus*, zalicza się także *P. pulmonarius*. Kapelusze *P. pulmonarius* mają średnicę 5–12 cm, powierzchnia ich jest gładka, w środku lekko wypukła. Boczniki są cennym źródłem witamin i minerałów, a także białka. Są bogatsze niż inne gatunki grzybów w witaminy z grupy B. Ze względu na obecne w nich substancje biologicznie czynne mają również właściwości lecznicze [Ziombra i in. 2005].

Owocniki grzybów jadalnych charakteryzują się niskim okresem przydatności do spożycia, dlatego konieczne jest ich szybkie utrwalenie po zbiorze. Fermentacja mlekowa jest tradycyjną i naturalną metodą utrwalania żywności, zapewniającą wysoką wartość biologiczną produktu. Metoda ta jest tania, a dzięki wysokiej zawartości kwasu mlekowego produkt nie wymaga dodatkowego utrwalania. Kwas mlekowy obniża kwasowość czynną (pH) układu pokarmowego, co wspomaga rozwój rodzimej mikroflory jelitowej [Chabłowska i in. 2012]. Produkty fermentowane są bardzo dobrym źródłem mikroflory probiotycznej, witaminy C, witamin z grupy B i błonnika pokarmowego regulującego perystaltykę jelit. Ważną właściwością kiszzonek jest ta, że mogą one zawierać dwa razy

---

<sup>1</sup> Uniwersytet Rolniczy w Krakowie, Wydział Technologii Żywności, Katedra Technologii Produktów Roślinnych i Higieny Żywności, kavyav35@gmail.com

<sup>2</sup> Uniwersytet Rolniczy w Krakowie, Wydział Biotechnologii i Ogrodnictwa, Katedra Ogrodnictwa

więcej związków przeciwutleniających niż świeże surowce. Antyoksydanty odgrywają ważną rolę w profilaktyce raka, ponieważ chronią organizm przed wolnymi rodnikami [Hirayama i Rafter 2000]. W wyniku fermentacji mlekowej obserwuje się również wzrost biodostępności niektórych składników mineralnych, w tym wapnia, magnezu i potasu [Jabłońska-Ryś i in. 2019].

Celem tej pracy była ocena wpływu procesu kiszenia na jakość owocników *Pleurotus pulmonarius*. W ramach procesu technologicznego zastosowano blanszowanie w wodzie, zróżnicowano skład zalewy oraz wykorzystano zarówno fermentację spontaniczną, jak i w oparciu o szczepionkę bakterii mlekowych.

## Materiały i metody

### Materiał badawczy

Materiał badawczy stanowiły kiszone owocniki *Peurotus pulmonarius* (Fr.) Quel. Świeże grzyby były uprawiane w kontrolowanych warunkach na Wydziale Biotechnologii i Ogrodnictwa Uniwersytetu Rolniczego w Krakowie. Podłoże do uprawy grzybów stanowiły trociny bukowe z dodatkiem słomy, otrębów pszennych i gipsu ogrodowego. Owocniki zbierano wcześniej rano, a następnie w ciągu godziny przetwarzano na kiszonki. Obróbka wstępna grzybów obejmowała: oczyszczanie z resztek podłoża, mycie w bieżącej, zimnej wodzie, odsączenie na sitach, oddzielanie kapeluszy od trzonów. Następnie połowa owocników została poddana blanszowaniu w wodzie przez 2 min w temp.  $98^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ . Blanszowanie przeprowadzono w garnku ze stali nierdzewnej o pojemności  $10 \text{ dm}^3$ , stosunek masy grzybów do wody wynosił 1:5. Po blanszowaniu grzyby schłodzono w zimnej wodzie i odsączono na sitach. W następnym etapie zarówno grzyby nieblanszowane, jak i po blanszowaniu zostały umieszczone w naczyniach fermentacyjnych (szklane słoje) i zalane zalewą, którą stanowił wodny roztwór NaCl z dodatkiem sacharozy lub glukozy oraz z dodatkiem szczepionki. Szczepionkę stanowiły bakterie mlekowe wyizolowane z wcześniej prawidłowo ukiszonych grzybów. Stosunek solanki do grzybów wynosił 7:4.

Przygotowano następujące rodzaje produktów:

1. Brak blanszowania, zalewa 2-proc. NaCl,
2. Blanszowanie + zalewa 2-proc. NaCl,
3. Brak blanszowania + zalewa 2-proc. NaCl, 2-proc. sacharoza,
4. Blanszowanie + zalewa 2-proc. NaCl, 2-proc. sacharoza,
5. Blanszowanie + zalewa 2-proc. NaCl, 2% glukoza,
6. Blanszowanie + zalewa 2-proc. NaCl, 2-proc. glukoza, szczepionka,
7. Blanszowanie + zalewa 2-proc. NaCl, 2-proc. sacharoza, szczepionka.

Fermentację prowadzono w warunkach względnie beztlenowych. W tym celu grzyby po zalaniu zalewą obciążono obciążnikami, które codziennie myto w czystej wodzie. Fermentację przeprowadzono w temp.  $21^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$  do momentu uzyskania  $\text{pH} \leq 4,0$  (dwa lub cztery dni), a następnie w temp.  $4^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ , tak aby całkowity czas fermentacji wynosił siedem dni. Produkty o  $\text{pH} > 4,0$  zostały wyeliminowane z dalszych badań.

## Metody

Po zakończeniu procesu fermentacji owocniki zostały oddzielone od zalewy. Dalszym analizom poddano tylko owocniki.

Oznaczanie pH zostało wykonane przy użyciu miernika pH Jonmeter Methrohm 692 i elektrody kombinowanego Methrohm 6.0233.100 (AOAC 1995).

Profil związków fenolowych (fenole ogółem, fenylopropanoidy ogółem, flawonoidy ogółem i antocyjany ogółem) został określony w 80-proc. ekstraktach metanolowych zgodnie z metodą podaną przez Fukumoto i Mazzę [2000]. Próbki grzybów homogenizowano z 80-proc. metanolem (40 mg/ml) i następnie odwirowano. Całkowita zawartość związków fenolowych, fenylopropanoidów, flawonoidów i antocyjanów została określona metodą spektrofotometryczną przy długościach fal, odpowiednio: 280, 320, 360 i 520 nm. Pomiar został wykonany przy użyciu spektrofotometru Shimadzu UV-160A. Zawartość fenoli ogółem, fenylopropanoidów ogółem, flawonoidów ogółem i antocyjanów ogółem obliczono na podstawie krzywych wzorcowych przygotowanych odpowiednio dla kwasu chlorogenowego, kwasu kawowego, kwercetyny i cyjanidyny.

Oznaczanie barwy przeprowadzono w systemie CIELab za pomocą spektrofotometru KONICA MINOLTA-3500d. Określono następujące parametry:  $L^*$  – jasność ( $L^* = 0$ , czarna;  $L^* = 100$ , biała),  $a^*$  – udział barwy czerwonej ( $a^* > 0$ ), zielonej ( $a^* < 0$ ) lub szarej ( $a^* = 0$ ),  $b^*$  – udział barwy żółtej ( $b^* > 0$ ), niebieskiej ( $b^* < 0$ ) lub szarej ( $b^* = 0$ ).

Analizie tekstury (twardość, N/mm) poddano kapelusze. W badaniu wykorzystano wytrzymałościomierz Shimadzu EZ-TEST, model EZ-LX wyposażony w głowicę 1000 N. Pomiar przeprowadzono metodą cięcia, przy użyciu gilotyny (Razor Blade Cutting JIG) wyposażonej w ostry nóż i stół z rowkiem. Grzyby były cięte z prędkością 0,5 mm/s, deformacja wynosiła 95%. Kapelusze układano blaszkami skierowanymi w dół, wykonano cięcie poprzeczne.

## Analiza statystyczna

Analizy chemiczne i barwy przeprowadzono w czterech niezależnych powtórzeniach, teksturę – w ośmiu. Uzyskane wyniki analizowano statystycznie przy użyciu jednoczynnikowej analizy wariancji (ANOVA) na podstawie testu Duncana ( $P < 0,05$ ). Obliczenia przeprowadzono przy użyciu Statistica 10.0 PI (Stat-Soft).

## Wyniki i dyskusja

### Pomiar pH

Według Woźniak i Gapińskiego [1998] pH właściwie ukiszonych grzybów powinno być poniżej 4,0, a jego optymalny zakres to 3,4–3,6. W czasie pierwszych trzech dni fermentacji zaobserwowano spadek wartości pH we wszystkich produktach. W czwartym dniu fermentacji w dwóch przypadkach (grzyby kiszone bez dodatku cukru) zanotowano wzrost wartości pH, dlatego produkty te wyeliminowano z dalszych badań.

Prawdopodobną przyczyną wzrostu pH był rozwój szkodliwej mikroflory, która spowodowała odkwaszenie środowiska. Pozostałe produkty, dla których proces fermentacji przebiegał prawidłowo, uzyskały pH < 4,0. Końcowe wartości pH wahały się od 3,60 do 3,99, a wykazane różnice były nieistotne statystycznie. Najwyższe pH zaobserwowano w przypadku grzybów nieblanszowanych, fermentowanych w zalewie z dodatkiem sacharozy, a najniższe w przypadku zastosowania blanszowania oraz dodatku glukozy i szczepionki. Modyfikacja procesu fermentacji poprzez dodanie szczepionki miała pozytywny wpływ na pH produktów, ponieważ zaobserwowano skrócenie czasu dochodzenia do pH < 4,0, a więc czasu fermentacji o dwa dni (tab. 1). Fan i in. [2017] stwierdzili, że ogórki poddane fermentacji mlekowej w solance z dodatkiem bakterii probiotycznych miały niższe pH w porównaniu z ogórkami bez dodatku szczepionki. Z kolei Skąpska i in. [2008] wykazali, że użycie do kiszenia grzybów szczepionki *Lactobacillus plantarum* umożliwiło uzyskanie pH 3,5–4,0 po tygodniu fermentacji.

Tabela 1. Zmiany pH w czasie fermentacji *P. pulmonarius*

Rodzaj produktu	Temperatura fermentacji					
	21°C			4°C		
	Dzień fermentacji					
	0	1	3	4	5	7
Blanszowanie + zalewa: NaCl	7,90 <sup>p</sup>	6,51 <sup>k</sup>	4,48 <sup>gh</sup>	4,66 <sup>h</sup>	-	-
Blanszowanie + zalewa: NaCl + sacharoza	7,90 <sup>p</sup>	6,70 <sup>kl</sup>	4,38 <sup>fgh</sup>	3,93 <sup>abcd</sup>	3,93 <sup>abcd</sup>	3,96 <sup>abcde</sup>
Brak blanszowania + zalewa: NaCl	7,00 <sup>lm</sup>	5,29 <sup>ij</sup>	5,20 <sup>i</sup>	5,61 <sup>j</sup>	-	-
Brak blanszowania + zalewa: NaCl + sacharoza	7,30 <sup>mn</sup>	5,44 <sup>ij</sup>	4,15 <sup>defgh</sup>	4,00 <sup>bedef</sup>	4,02 <sup>edef</sup>	3,99 <sup>bedef</sup>
Blanszowanie + zalewa: NaCl + glukoza	7,27 <sup>mn</sup>	4,34 <sup>efgh</sup>	3,87 <sup>abcd</sup>	3,86 <sup>abcd</sup>	3,86 <sup>abcd</sup>	3,84 <sup>abcd</sup>
Blanszowanie + zalewa: NaCl + glukoza + szczepionka	7,50 <sup>n</sup>	3,95 <sup>abcde</sup>	3,59 <sup>ab</sup>	3,57 <sup>a</sup>	3,60 <sup>abc</sup>	3,60 <sup>abc</sup>
Blanszowanie + zalewa: NaCl + sacharoza + szczepionka	7,33 <sup>mn</sup>	3,97 <sup>abcde</sup>	3,64 <sup>abc</sup>	3,64 <sup>abc</sup>	3,62	3,61 <sup>abc</sup>

Średnie oznaczone małymi literami w obrębie wierszy i kolumn różnią się istotnie przy  $P < 0,05$

### Profil związków fenolowych

Bezpośrednio po fermentacji *P. pulmonarius*, w zależności od rodzaju produktu, oznaczono w 100 g produktu ogółem: 0–237,3 mg fenoli, 0–27,8 mg fenylopropanoidów, 18,8–53,4 mg flawonoidów i 5,8–15,2 mg antocyjanów. Najwięcej fenoli i fenylopropa-



Tabela 2. Związki fenolowe w kiszonych grzybach

Rodzaj związków	Rodzaj produktu	Średnia ±SD
Fenole ogółem (mg kwasu chlorogenowego/ 100 g produktu)	Blanszowanie + zalewa: NaCl + sacharoza	141,4 ±14,9b
	Brak blanszowania + zalewa: NaCl + sacharoza	237,3 ±7,4c
	Blanszowanie + zalewa: NaCl + glukoza	0,0 ±0,0a
	Blanszowanie + zalewa: NaCl + glukoza + szczepionka	0,0 ±0,0a
	Blanszowanie + zalewa: NaCl + sacharoza + szczepionka	0,0 ±0,0a
Fenypropanoidy ogółem (mg kwasu kawowego/100 g produktu)	Blanszowanie + zalewa: NaCl + sacharoza	15,2 ±1,6b
	Brak blanszowania + zalewa: NaCl + sacharoza	27,8 ±2,8c
	Blanszowanie + zalewa: NaCl + glukoza	0,0 ±0,0a
	Blanszowanie + zalewa: NaCl + glukoza + szczepionka	0,0 ±0,0a
	Blanszowanie + zalewa: NaCl + sacharoza + szczepionka	0,0 ±0,0a
Flawonoidy ogółem (mg kwercetyny/100 g produktu)	Blanszowanie + zalewa: NaCl + sacharoza	18,8 ±1,2a
	Brak blanszowania + zalewa: NaCl + sacharoza	35,2 ±2,1c
	Blanszowanie + zalewa: NaCl + glukoza	19,9 ±0,9a
	Blanszowanie + zalewa: NaCl + glukoza + szczepionka	28,2 ±2,7b
	Blanszowanie + zalewa: NaCl + sacharoza + szczepionka	53,4 ±3,1d
Antocyjany ogółem (mg cyjanydiny/100 g produktu)	Blanszowanie + zalewa: NaCl + sacharoza	5,8 ±0,7a
	Brak blanszowania + zalewa: NaCl + sacharoza	10,3 ±0,7b
	Blanszowanie + zalewa: NaCl + glukoza	5,9 ±0,4a
	Blanszowanie + zalewa: NaCl + glukoza + szczepionka	6,8 ±0,4a
	Blanszowanie + zalewa: NaCl + sacharoza + szczepionka	15,2 ±1,0c

Średnie oznaczone małymi literami w obrębie wierszy różnią się istotnie przy  $P < 0,05$

noidów ogółem stwierdzono w kiszonce z grzybów nieblanszowanych, fermentowanych w solance z dodatkiem sacharozy. Z kolei najwyższą zawartość flawonoidów i antocyjanów ogółem odnotowano w produkcie z owocników blanszowanych, fermentowanych w solance z dodatkiem sacharozy. W pozostałych trzech produktach nie stwierdzono obecności fenoli i fenylopropanoidów ogółem. W przypadku flawonoidów i antocyjanów ogółem najniższe poziomy odnotowano w produkcie z grzybów blanszowanych, kiszonych w zalewie z dodatkiem sacharozy. Zarówno blanszowanie, jak i dodatek szczepionki miały niewielki wpływ na zawartość omawianych związków fenolowych. Wykazano, że produkty kiszone z dodatkiem glukozy zawierały prawie dwa razy więcej flawonoidów i antocyjanów ogółem niż kiszone z dodatkiem sacharozy. Radzki i in. [2019] wykazali,

że blanszowane, kiszone pieczarki zawierały około 60% mniej fenoli ogółem w porównaniu ze świeżymi grzybami. Do podobnych wniosków doszli Jałowska-Ryś i in. [2016] w odniesieniu do kiszonych owocników bocznika ostrygowatego.

## Barwa

Parametry barwy  $L^*$ ,  $a^*$  i  $b^*$  w kiszonych grzybach były na poziomie odpowiednio: 58,85–67,44; 1,55–2,68 i 12,54–16,97. Modyfikacja procesu fermentacji poprzez blanszowanie doprowadziła do znacznego rozjaśnienia barwy kiszonych grzybów oraz obniżenia poziomu parametrów  $a^*$  i  $b^*$ . Zastosowanie szczepionki miało również znaczący wpływ na barwę grzybów, przy czym jej zmiany zależały od rodzaju użytego cukru (sacharoza, glukoza). Produkty kiszone z udziałem sacharozy były nieco ciemniejsze oraz cechowały się większym udziałem barwy czerwonej i żółtej (parametr  $a^*$  i  $b^*$ ), odpowiednio o 55% i 10%. Jałowska-Ryś i in. [2016] na skutek kiszenia grzybów odnotowali zmniejszenie jasności grzybów przy jednoczesnym wzroście udziału barwy czerwonej ( $a^*$ ) i żółtej ( $b^*$ ). Z kolei zastosowanie kultury starterowej *Lactobacillus plantarum* Ib pozwoliło uzyskać barwę na poziomie  $L^* = 76,89$ ;  $a^* = 2,03$  i  $b^* = 23,75$ . Dla porównania Bernas [2018] określił jasność świeżych pieczarek na poziomie 72,1, parametr  $a^*$  wynosił 3,3, zaś  $b^*$  miał 11,3. W wyniku zamrożenia grzybów nieblanszowanych i blanszowanych badaczka zauważyła zmniejszenie jasności owocników, przy czym większe zmiany odnotowała w produktach wykonanych z grzybów blanszowanych. Matser i in. [2000] barwę świeżych owocników *A. bisporus* ocenili na poziomie:  $L^* = 90,7$ ;  $a^* = 0,8$ ;  $b^* = 14,5$ , a blanszowanych przez 5 min w wodzie na poziomie: 79,7; -0,6; 15,3.

Tabela 3. Barwa kiszonych *P. pulmonarius*

Parametr barwy	Rodzaj produktu	Średnia $\pm$ SD
$L^*$	Blanszowanie + zalewa: NaCl + sacharoza	67,44 $\pm$ 0,02e
	Brak blanszowania + zalewa: NaCl + sacharoza	58,85 $\pm$ 0,09a
	Blanszowanie + zalewa: NaCl + glukoza	66,30 $\pm$ 0,11b
	Blanszowanie + zalewa: NaCl + glukoza + szczepionka	66,73 $\pm$ 0,05d
	Blanszowanie + zalewa: NaCl + sacharoza + szczepionka	66,56 $\pm$ 0,13c
$a^*$	Blanszowanie + zalewa: NaCl + sacharoza	1,55 $\pm$ 0,01a
	Brak blanszowania + zalewa: NaCl + sacharoza	2,68 $\pm$ 0,02e
	Blanszowanie + zalewa: NaCl + glukoza	1,90 $\pm$ 0,04b
	Blanszowanie + zalewa: NaCl + glukoza + szczepionka	2,10 $\pm$ 0,07c
	Blanszowanie + zalewa: NaCl + sacharoza + szczepionka	2,41 $\pm$ 0,03d
$b^*$	Blanszowanie + zalewa: NaCl + sacharoza	12,54 $\pm$ 0,03a
	Brak blanszowania + zalewa: NaCl + sacharoza	16,97 $\pm$ 0,06c
	Blanszowanie + zalewa: NaCl + glukoza	13,88 $\pm$ 0,04b
	Blanszowanie + zalewa: NaCl + glukoza + szczepionka	13,90 $\pm$ 0,06b
	Blanszowanie + zalewa: NaCl + sacharoza + szczepionka	13,83 $\pm$ 0,04b

Średnie oznaczone małymi literami w obrębie wierszy różnią się istotnie przy  $P < 0,05$

## Tekstura

Twardość kiszonych kapeluszy wynosiła 0,63–2,75 N/mm. Najwyższą twardością charakteryzował się produkt z owocników blanszowanych, fermentowanych w solance z dodatkiem sacharozy i szczepionki, a najniższą – kiszonka z grzybów nieblanszowanych. Çağlarirmak [2007] stwierdził, że świeże kapelusze *Pleurotus ostreatus* miały twardość 0,33 kg/mm<sup>2</sup>, a *Pleurotus sajor-caju* – 0,30 kg/mm<sup>2</sup>. Zastosowanie blanszowania przed kiszeniem spowodowało istotny wzrost twardości grzybów o 71%. Ponadto wykazano, że produkty fermentowane w solance z dodatkiem sacharozy i szczepionki charakteryzowały się o 28% większą twardością niż kiszonki uzyskane bez ich dodania. Bernaś i in. [2007] określili twardość świeżych grzybów na poziomie 54,98 N, a blanszowanych w wodzie – na poziomie 33,30 N.

Tabela 4. Twardość (N/mm) kiszonych kapeluszy *P. pulmonarius*

Rodzaj produktu	Średnia ±SD
Blanszowanie + zalewa: NaCl + sacharoza	2,15 ±0,22b
Brak blanszowania + zalewa: NaCl + sacharoza	0,63 ±0,10a
Blanszowanie + zalewa: NaCl + glukoza	2,05 ±0,16b
Blanszowanie + zalewa: NaCl + glukoza + szczepionka	1,94 ±0,25b
Blanszowanie + zalewa: NaCl + sacharoza + szczepionka	2,75 ±0,22c

Średnie oznaczone małymi literami w obrębie wierszy różnią się istotnie przy  $P < 0,05$

## Wnioski

1. Modyfikacja procesu fermentacji poprzez zastosowanie blanszowania oraz dodatku sacharozy, glukozy i zastosowanie szczepionki miały wpływ na przebieg fermentacji i jakość produktu końcowego.

2. W celu uzyskania pH < 4,0 wymagane jest zastosowanie dodatku sacharozy lub glukozy, a w celu otrzymania produktu o dobrej konsystencji owocników niezbędnym zabiegiem jest blanszowanie.

3. Zastosowanie dodatku szczepionki pozwoliło skrócić czas fermentacji o dwa dni oraz przyczyniło się do zmniejszenia pH, ale nie wpłynęło na zawartość związków fenolowych.

## Bibliografia

- Bernaś E., Jaworska G., Maciejaszek I., Biernacka A. 2007. Wpływ obróbki wstępnej, zamrażania i zamrażalniczego składowania na teksturę pieczarek. Żywn. Nauka. Technol. Jakość. 5(54), 165–172.
- Çağlarirmak N., 2007. The nutrients of exotic mushrooms (*Lentinula edodes* and *Pleurotus species*) and an estimated approach to the volatile compounds. Food Chem., 105(3), 1188–1194. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.02.021>

- Chabłowska B., Piasecka-Jóźwiak K., Rozmierska J., Szkudzińska-Rzeszowiak E., 2012. Initiated lactic acid fermentation of cucumbers from organic farm by application of selected starter cultures of lactic acid bacteria. *J. Res. Appl. Agric. Eng.* 3, 31–36.
- Cheung P.C.K., 2010. The nutritional and health benefits of mushrooms. *Nutr. Bull.* 35(4), 292–99. <https://doi.org/10.1111/j.1467-3010.2010.01859.x>
- Fan S., Fred B., Robert P., Ilenys P., 2017. Survival and growth of probiotic lactic acid bacteria in refrigerated pickle products. *J. Food Sci.* 82(1), 167–173. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.13579>
- Fukumoto L.R., Mazza G., 2000. Assessing antioxidant and prooxidant activities of phenolic compounds. *J. Agric. Food Chem.* 48(8), 3597–3604. <https://doi.org/10.1021/jf000220w>
- Hirayama K., Rafter J., 2000. The role of probiotic bacteria in cancer prevention. *Microb. Inf.* 2(6), 681–686. [https://doi.org/10.1016/S1286-4579\(00\)00357-9](https://doi.org/10.1016/S1286-4579(00)00357-9)
- Jabłońska-Ryś E., Katarzyna S., Aneta S., Wojciech R., Gustaw W., 2019. Lactic acid fermentation of edible mushrooms: tradition, technology, current state of research: A review. *Comp. Rev. Food Sci.* 18 (3), 655–669. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12425>
- Jaworska G., Bernaś E., 2009. The effect of preliminary processing and period of storage on the quality of frozen *Boletus edulis* (Bull: Fr.) mushrooms. *Food Chem.* 113(4), 936–943. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.08.023>
- Kalbarczyk J., Radzki W., 2009. Uprawiane grzyby wyższe jako cenny składnik diety oraz źródło substancji aktywnych biologicznie. *Herba Polon.*, 55(4), 224–232.
- Matser A.M., Knott E.R., Teunissen P.G.M., Bartels P.V., 2000. Effects of high isostatic pressure on mushrooms. *J. Food Eng.*, 45(1), 11–16. [https://doi.org/10.1016/S0260-8774\(00\)00035-2](https://doi.org/10.1016/S0260-8774(00)00035-2)
- Radzki W., Ziaja-Softys M., Nowak J., Topolska J., Bogucka-Kocka A., Sławińska A., Michalak-Majewska M., Jabłońska-Ryś E., Kuczumow A., 2019. Impact of processing on polysaccharides obtained from button mushroom (*Agaricus bisporus*). *Int. J. Food Sci. Technol.* 54(4), 1405–1412. <https://doi.org/10.1111/ijfs.14084>
- Skapska S., Owczarek L., Jasinska U., Hasinska A., Danielczuk J., Sokolowska B., 2008. Changes in the antioxidant capacity of edible mushrooms during lactic acid fermentation. *Food Sci. Technol. Qual.* 59, 243–250.
- Sułkowska-Ziaja K., Muszyńska B., Motyl P., Paško P., Ekiert H. 2012. Phenolic compounds and antioxidant activity in some species of polyporoid mushrooms from Poland. *Int. J. Med. Mush.* 14(4), 385–393. <https://doi.org/10.1615/IntJMedMushr.v14.i4.60>
- Valverde M.E., Hernández-Pérez T., Paredes-López O., 2015. Edible mushrooms: improving human health and promoting quality life. *Int. J. Microb.*, 2015, 376387. <https://doi.org/10.1155/2015/376387>
- Vivar-Quintana A.M., González-San José M.L., Collado-Fernández M., 1999. Influence of canning process on colour, weight and grade of mushrooms. *Food Chem.* 66(1), 87–92. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(98\)00247-7](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(98)00247-7)
- Woźniak W., Gapiński M., 1998. Ocena nowych odmian grzybów jadalnych [*Agaricus bisporus* (Lange), Sing.]. *Zesz. Nauk. ATR Bydgoszcz.* 42(215), 257–260.
- Ziombra M., Lawicka K., Pawlak P., 2005. Wpływ liczby i średnicy otworów w folii okrywającej podłoże na plonowanie bocznika (*Pleurotus* sp.). *Zesz. Nauk. AR Wrocław. Rolnictwo.* 86, 591–596.

## **Zastosowanie mleka różnych gatunków zwierząt w przemyśle farmaceutycznym i kosmetycznym**

The use of milk of various animal species in the pharmaceutical and cosmetic industries

W ostatnich latach mleko coraz częściej i bardziej różnorodnie jest wykorzystywane w dwóch bardzo szybko rozwijających się sektorach gospodarki światowej, tj. w przemyśle farmaceutycznym i kosmetycznym.

Sektor farmaceutyczny ma szczególne znaczenie w kontekście zdrowia i życia społeczeństwa. Należy również do głównych branż zaopatrujących polski rynek w renowacje. Z raportu GUS [2020] wynika, że wartość globalnej produkcji wyrobów farmaceutycznych w Polsce w 2010 r. wyniosła 12795,5 mln zł, zaś w 2019 r. – aż 14762,1 mln zł. Uwzględniając dane z roku 2020 i prognozowane na rok 2021, dla wyrobów farmaceutycznych prawdopodobnie zanotowany zostanie kilkuprocentowy wzrost wartości produkcji sprzedanej [GUS 2021].

Z kolei w przemyśle kosmetycznym na arenie międzynarodowej Polska, według raportu Consumer Insights [Walker-Love 2017], plasuje się w pierwszej dziesiątce krajów notujących z roku na rok wzrost wartości produkcji w tej branży. Według raportu Polskiej Agencji Inwestycji i Handlu z 2017 r. [PAIH 2017] oraz Raportu o stanie branży kosmetycznej w Polsce z 2017 r. [Lipiński 2017] wartość rynku kosmetyków w naszym kraju w 2016 r. wyniosła 16 mln zł, a prognozowana na rok 2021 to 20 mln zł.

### **Skład chemiczny i właściwości mleka**

Rosnące zainteresowanie mlekiem i jego poszczególnymi składnikami wynika z jego składu chemicznego, a także działania biologicznego i właściwości funkcjonalnych zawartych w nim związków. Pod względem chemicznym mleko stanowi emulsję tłuszczową w wodnym roztworze, połączoną laktozą, składnikami mineralnymi i białkami [Bekere i Husen 2019].

Składniki zawarte w mleku wykazują wielokierunkową aktywność biologiczną i funkcjonalną [Brodziak i in. 2018, Król i in. 2014]. Mleko różnych gatunków zwierząt różni się jednak podstawowym składem chemicznym i zawartością składników wykazujących aktywność biologiczną. Jak wynika z tabeli 1, mleko reniferów jest najbardziej energetyczne ze względu na wysoką zawartość tłuszczu (15,5%).

---

<sup>1</sup> Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, Instytut Oceny Jakości i Produktów Pochodzenia Zwierzęcego, joanna.wajs@up.lublin.pl

Tabela 1. Podstawowy skład chemiczny mleka w zależności od gatunku zwierzęcia [Chaudhary i in. 2017, Claeys i in. 2014, Dmytrów i Włodarczyk 2020, Faccia i in. 2020, Fangmeier i in. 2018, Khan i in. 2019, Numpaque i in. 2019, Park i Haenlein 2006, Temerbayeveva i in. 2018, Tsakali i in. 2017]

Mleko	Krowie	Kozie	Owczę	Bawole	Kobyle	Renifera	Wielbłądzie
Białko [%]	3,40	3,41	4,94	3,24	2,10	9,90	3,11
Tłuszcz [%]	3,80	4,62	6,00	5,60	6,10	15,50	4,76
Laktoza [%]	3,83	4,47	5,61	5,50	4,60	2,50	3,90
Popiół [%]	0,75	0,76	0,90	0,95	0,50	0,91	0,77
pH	6,86	7,00	6,60	6,88	6,97	6,61	6,55
Kwas mlekowy [%]	0,49	0,16–0,19	0,11–0,17	0,31	bd	bd	0,77
Witamina A [mg/l]	46	185	146	69	0,093	0,051–0,141	0,005–0,0097
Witamina E [mg/100 g]	0,21	0,03	0,03	0,19	0,26	0,019–0,088	0,021–0,15
Witamina D [mg/100 g]	2,0	1,33	1,18	2,0	0,003	0,00007–0,00014	0,0003–0,0016
Witamina C [mg/100 g]	0,09	1,29	4,16	2,50	1,28	2,00	2,40–18,40
Witamina B <sub>6</sub> [mg/100 g]	0,040	0,046	0,080	0,330	0,030	bd	0,050–0,055
Witamina B <sub>12</sub> [mg/100 g]	0,45	0,665	0,712	0,40	0,0003	bd	0,0002
Wapń [mg/100 g]	122	134	195–200	112	775	273	132

bd – brak danych

W tabeli 2 przedstawiono zawartość wybranych białek w mleku różnych gatunków zwierząt. Białka mleka stanowią źródło bioaktywnych peptydów wykazujących pozytywne działanie na organizm człowieka, m.in. immunomodulacyjne, przeciwdrobnoustrojowe, przeciwwzapalne, przeciwbakteryjne, antyoksydacyjne, opioidowe, przeciwzakrzepowe, przeciwnowotworowe, hipotensyjne czy zdolność wiązania składników mineralnych [Bulca i Güvenç 2020].

Wszystkie frakcje kazeiny są odpowiedzialne za transport fosforanu wapnia w mleku, stosowane w preparatach dla dzieci oraz starszych [Selvaggi i in. 2014]. Wiele korzystnych zdrowotnie właściwości posiadają również białka serwatkowe:  $\alpha$ -laktoalbumina,  $\beta$ -laktoglobulina, laktoferyna, laktoperoksydaza czy lizozym [Alhaj i Al Kanhal 2010].  $\alpha$ -laktoalbumina jest koenzymem stymulującym zdolność zatrzymywania wody,

a obecności tryptofanu i cysteiny wpływa na funkcje poznawcze czy przeciwdziała otyłości [Derdak i in. 2020].  $\beta$ -laktoglobulina uczestniczy w transporcie retinolu oraz witaminy D. Stanowi źródło prebiotyków, a obecność cysteiny wpływa na hamowanie rozwoju nowotworów [Alichanidis i in. 2016, Padilla i in. 2018]. Laktoferyna i lizozym mają właściwości przeciwdrobnoustrojowe, prebiotyczne, przeciwnowotworowe czy zdolność denaturacji błon komórkowych bakterii Gram-dodatnich [Kanwar i in. 2015, Moatsou i Sakkas 2019]. Lizozym, zwany również antybiotykiem endogennym, neutralizuje kwaśne substancje, w konsekwencji umożliwia wykorzystanie go w produktach leczniczych.

Tabela 2. Zawartość wybranych białek w mleku pochodzącym od różnych gatunków ssaków [Król i Brodziak 2015, Roy i in. 2020, Wang i in. 2017]

Mleko	Krowie	Kozie	Owcze	Bawole	Kobyle	Renifera	Wielbłądzie
Kazeina [g/l]	27,2	25,0	41,8–52,6	32,0–40,0	9,4–13,6	5,5–8,7	26,4
Białka mleka [g/l]	5,5–7,0	3,7–7,0	10,2–16,1	6,46	7,4–9,1	0,6	5,9–8,1
$\alpha$ -laktoalbumina [g/l]	1,0–1,5	1,2	6,5–13,5	1,05	2,55	2,1	3,5
$\beta$ -laktoglobulina [g/l]	3,3–4,0	2,1	1,0–1,9	3,58	2,37	9,8	1,45
Lizozym [mg/l]	0,37–0,60	0,25	1,0–4,0	0,13–0,15	0,40–0,89	–	0,73–5,00
Laktoferyna [mg/l]	80–500	98–150	140	50–320	0,82	2,6	200–728

Spośród pozostałych składników bioaktywnych o potencjale w przemyśle farmaceutycznym i kosmetycznym należy wspomnieć o kwasach tłuszczowych. Szczególną uwagę należy zwrócić na sprzężony kwas linolowy (CLA – *conjugated linolic acid*), który ma wiele pozytywnych właściwości prozdrowotnych. Przypisuje się mu m.in. działanie przeciwnowotworowe, które obserwuje się przy dawce od 55 mg do 3,5 g CLA dziennie. Spożywanie CLA redukuje występowanie nowotworu jelita grubego, piersi, jąder oraz uczestniczy w modulowaniu odporności [Abd El-Gawad i in. 2021, Fox i in. 2015]. Zmniejsza objawy siennego kataru u osób z alergią na pyłki brzozy, poprawia produkcję przeciwciał po szczepieniu na wirusowe zapalenie wątroby czy wpływa na regulację mikroflory jelitowej [Dilzer i Park 2012]. Zapobiega również miażdżycy oraz cukrzycy typu II [Fox i in. 2015]. Dodatkowo redukuje przewlekłe stany zapalne oraz zmniejsza ryzyko osteoporozy [Abd El-Gawad i in. 2021]. Co ważne, CLA wpływa na poprawę pomiarów antropometrycznych i składu ciała. Zmniejsza gromadzenie się kwasów tłuszczowych poprzez ograniczenie syntezy triacylogliceroli przy jednoczesnym zmniejszeniu rozmiaru adipocytów [Ibrahim i El-Sayed 2021].

### Wykorzystanie mleka różnych ssaków w przemyśle farmaceutycznym

Do białek używanych w przemyśle farmaceutycznym należą laktoperoksydaza, laktoferyna i lizozym, które stanowią składniki past do zębów, płynów dezynfekujących oraz gum do żucia jako czynniki bakteriobójcze, hamujące rozwój próchnicy [Król i Brodziak 2015]. Białka mleka wchodzi także w skład maści na rany i oparzenia. Dzięki

Tabela 3. Zastosowanie mleka i jego składników w produktach farmaceutycznych  
[opracowanie własne]

Rodzaj produktu	Charakterystyka produktu	Rodzaj mleka	Zastosowanie
Tabletki ziołowe	AVOPLATE Carica Papaya Leaf Extract, Tinospora Cordifolia and Goat Milk Extract Capsule (Avonic Life Science)	mleko kozie	– wspiera procesy trawienne
Tabletki	Ori Plat Carica Papaya 1100 mg, Tinospora Cordifolia 150 mg, Mleko kozie w proszku 150 mg (Orion LifeScience)	mleko kozie	– wspomaga procesy trawienne – zwiększa ilość płytek krwi – zapobiega powstawaniu wrzodziejącego jelita grubego – wspomaga leczenie choroby Leśniowskiego-Crohna
Tabletki	CAKRA Anti Diabetic (Gold King Berry)	mleko wielbłądziej	– reguluje poziom glukozy we krwi – zapobiega rozwojowi cukrzycy
Tabletki	Acidophilus Plus Goat's Milk (Solaray)	mleko kozie	– wzmacnia układ odpornościowy – wspomaga antybiotykoterapię
Suplement	Equamil Mare's Milk (Vivanto)	mleko kłaczycy	– oczyszcza wątrobę i usuwa zatrucia – obniża poziom cholesterolu – łagodzi ból i wzmacnia układ odpornościowy
Tabletki do żucia	Calcium Chews (Spring Sheep)	mleko owcze	– wspiera zdrowe kości i zęby
Tabletki do żucia	Angel I.2 Tabletki do żucia z mlekiem owczym i miodem manuka (La Nature Precieuse)	mleko owcze	– zwiększa odporność – wspomaga kontrolę masy ciała – wspomaga procesy widzenia
Tabletki do żucia	Goat Milk na stawy (New Zealand Pure Health)	mleko kozie	– niskotłuszczowy, niskoalergizujący zamiennik nabiału – bogate źródło wapnia i białka
Kapsułki	Proskin LF (PSM Sp. z o.o.)	laktoferyna z mleka krowiego	– polecane osobom zmagającym się z przewlekłymi chorobami skóry (łuszczycą, atopowym zapaleniem skóry, egzemą) – ułatwia detoksykację, czyli usuwanie toksyn z organizmu
Krem	Endvir Simplex (Vitis Pharma)	laktoferyna z mleka krowiego	– leczenie opryszczki – terapia zmian błon śluzowych
Kapsułki	Laktoferyna (Pharmabest)	mleko krowie (laktoferyna)	– zwiększenie odporności – wspomaga leczenie przeziębień i infekcji
Suplement w proszku	Whey Protein Hydrolysate 700 g (Ostrovit)	mleko krowie (serwatka)	– stymuluje i przyspiesza procesy regeneracyjne mięśni po intensywnym wysiłku fizycznym – stymuluje produkcję insuliny – wspomaga utratę masy ciała



obecności białek przeciwwzapalnych, jak również jedno- i wielonienasyconych kwasów tłuszczowych oraz szeregu witamin, stosowanie w branży farmaceutycznej mleka różnych gatunków zwierząt wspomaga leczenie chorób jelit, tj. choroby Leśniowskiego-Crohna, zespołu jelita drażliwego, autyzmu, żółtaczki, chorób wątroby, astmy, alergii, pryszczycy, chorób autoimmunologicznych czy osteoporozy [AL-Ayadhi i Halepoto 2017, Lad i in. 2017]. W badaniach klinicznych laktoferyna okazała się efektywna w hamowaniu infekcji wirusa zapalenia wątroby typu B (HBV – *hepatitis B virus*), opryszczki (*Herpes simplex virus*), ludzkiego wirusa niedoboru odporności (HIV – *human immunodeficiency virus*) czy wirusa brodawczaka ludzkiego (HPV – *human Papillomavirus*), enterowirusa i rotawirusa. Działa synergistycznie z lekami przeciwwirusowymi, np. z interferonem acyklowirem i cydofowirem, co pozwala obniżyć dawki zażywanych leków [Król i Brodziak 2015].

Ze względu na swoje wyjątkowe właściwości mleko pochodzące od różnych zwierząt znalazło zastosowanie również w preparatach mlekozastępczych. Zasobność mleka koziego, kobilego oraz oślego w niezbędne składniki odżywcze pozwala utrzymać homeostazę immunologiczną niemowlęcia, co determinuje ich zastosowanie w produkcji preparatów dla dzieci cierpiących na alergię na białka mleka [Ospanov i Toxanbayeva 2020].

Przykładowe produkty farmaceutyczne, w których skład wchodzi mleko lub jego składniki, zamieszczono w tabeli 3.

### **Wykorzystanie mleka różnych ssaków w przemyśle kosmetycznym**

Ekspansja sektora kosmetycznego wynika głównie ze wzrostu świadomości w zakresie dbałości o skórę. Najcenniejszymi frakcjami/składnikami pozyskiwanymi z mleka różnych gatunków ssaków, wykorzystywanymi w produktach kosmetycznych, są: colostrum (siara), serwatka oraz poszczególne białka mleka.

Mleko zawiera wiele cennych składników bioaktywnych o właściwościach poprawiających stabilność niskotłuszczowych emulsji kremowych, hydratacyjnych, wiązania wody, emulgujących czy tworzenia trwałych pian myjących, istotnych z punktu widzenia produkcji kosmetyków [Seo i Yoo 2020, Soltani i in. 2017].

Serwatka jako niemal bezbarwna ciecz wykazuje zdolność hamowania syntezy melaniny wpływającej na rozjaśnienie skóry, a dzięki obecności witamin E i C jest w stanie stymulować produkcję kolagenu w komórkach, wspomagać leczenie trądziku i innych zmian skórnych [Walkowiak i in. 2013].

Mleko kozie, owcze, ośle, klaczy czy wielbłądzie wykorzystuje się w kosmetykach pielęgnacyjnych, tj. jako żele pod prysznic, szampony do włosów i wiele innych, ponieważ wykazują działanie regenerujące, odżywcze czy nawilżające.

Często do produkcji preparatów myjących stosuje się serwatkę mleka ze względu na zdolność wiązania wody, właściwości emulgujące czy tworzenie trwałych pian, a także bogactwo składników bioaktywnych wnikać do skóry, np. witamin czy białek serwatkowych [Majewska i in. 2010].

Przykłady preparatów kosmetycznych zawierających składniki mleka zamieszczono w tabeli 4.

Tabela 4. Zastosowanie mleka i jego składników w produktach kosmetycznych [opracowane własne]

Typ produktu	Nazwa produktu	Zastosowanie
Płyn do kąpieli	Płyn do kąpieli z bioserwatką oraz eukaliptusem (Bioturm)	– wpływa na nawilżenie skóry – poprawia sprężystość skóry
Maseczka do twarzy	Agafia maseczka do twarzy z mlekiem łosia (Babuszka)	– wykazuje właściwości odmładzające
Mydło do rąk	Mydło marsylskie w płynie z dodatkiem oślego mleka (La Maisson)	– łagodzi podrażnienia, jest hipoalergiczne – nie wysusza skóry – ma właściwości bakteriobójcze, oczyszczające i antytrądzikowe
Krem do stóp	NUTRI reGENERATOR – krem odżywczo-regenerujący z colostrum (VICTOIA VYNN)	– wpływa pozytywnie na unaczynioną skórę, wzmacniając ją – polecany do stosowania przez diabetyków
Szampon do włosów	Szampon do włosów z mlekiem kłaczy (BRADARDENHOF)	– działa kojąco na swędzącą skórę głowy – wspomaga leczenie łuszczycy, atopowego zapalenia skóry i podrażnień skóry głowy
Krem do twarzy	Camel Milk Mousse Mask z mlekiem wielbłąda (Luxe London)	– łagodzi stany zapalne trądziku – złuszcza i odnawia komórki – stymuluje produkcję kolagenu i elastyny – pomaga zmniejszyć głębokość bruzd i zmarszczek na twarzy, zapewniając młodzieńczą skórę
Krem do twarzy	Krem pielęgnacyjny z mlekiem kłaczy i malwą (Wegwartehof)	– wspiera regenerację skóry – zabezpiecza skórę przed zimnem
Krem na oparzenia	Goat's Milk Lotion z mlekiem kozim (Burn Buster)	– daje uczucie chłodu po nałożeniu – łagodzi uczucie pieczenia – nawilża skórę – leczy komórki skóry
Żel po goleniu	Chłodzący żel po goleniu Yak Yeti z mlekiem z jaka (Natura Siberica)	– zmiękcza skórę – łagodzi podrażnioną cerę
Krem	Keladerm (Solinea)	– laktoferyna z mleka krowiego stosowana w przebarwieniach skóry
Krem	Acnex (Farmina)	– laktoferyna z mleka krowiego stosowana do codziennej pielęgnacji cery trądzikowej i tłustej

## Wnioski

Mleko pozyskiwane od różnych gatunków ssaków jest szeroko wykorzystywane w przemyśle farmaceutycznym i kosmetycznym. Szczególne znaczenie odgrywają serwatka i poszczególne białka mleka, co pozwala na ich zastosowanie w szerokiej gamie produktów pielęgnacyjnych oraz suplementów diety, będących elementem profilaktycznym chorób XXI w.

## Bibliografia

- Abd El-Gawad A.M., Abo El-Hassan D.G., Aboul-Enein A.M., Abdelgayed S.S., Aly S.A., Esmat G., Mostafa A.A., Bakr M.H., Ali R.A., Ayoub M.A., 2021. Anticancer activity of milk fat rich in conjugated linoleic acid against Ehrlich ascites carcinoma cells in female Swiss albino mice. *Vet. World* 14(3) 696–708. <https://doi.org/10.14202/vetworld.2021.696-708>
- AL-Ayadhi L., Halepoto D.M., 2017. Camel Milk as a Potential Nutritional Therapy in Autism. *Nutr. Dairy Implic. Health Dis.* 389–405. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-809762-5.00030-9>
- Alhaj O.A., Al Kanhal H.A., 2010. Compositional, technological and nutritional aspects of dromedary camel milk. *Int. Dairy J.* 20(12), 811–821.
- Alichanidis E., Moatsou G., Polychroniadou A., 2016. Chapter 5 – Composition and Properties of Non-cow Milk and Products, 81–116. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-803361-6.00005-3>
- Bekere H., Husen M., 2020. Composition of milk of different farm animal: a review. *Am. J. Pure Appl. Biosci.* <http://dx.doi.org/10.2139/ssrn.3713853>
- Brodziak A., Król J., Litwińczuk Z., Barłowska J., 2018. Differences in bioactive protein and vitamin status of milk from certified organic and conventional farms. *Int. J. Dairy Technol.* 71(2), 321–332.
- Bulca S., Güvenç B., 2020. Bioactive peptides in milk and milk products, antimicrobial properties and effects on human health. *Turkish J. Agricult. Food Sci. Technol.* 8, 1. <https://doi.org/10.24925/turjaf.v8i1.158-164.2886>
- Chaudhary M.J., Mehta B.M., Patel D.H., Darji V.B., Aparnathi K.D., 2017. Characterisation and comparison of khoa prepared from camel milk with that from cow and buffalo milk. *Int. J. Dairy Technol.* 70(2), 253–260.
- Claeys W.L., Verraes C., Cardoen S., De Block J., Huyghebaert A., Raes K., Dewettinck K., Herman L., 2014. Consumption of raw or heated milk from different species: an evaluation of the nutritional and potential health benefits. *Food Control.* 42, 188–201.
- Derdak R., Pop O.L., Sakoui S., Muresan C., Vodnar D.C., Addoum B., Suharoschi R., Vulturar R., Soukri A., El Khalfi B., 2020. Donkey milk bioactive proteins and peptides, health and food applications – a review. Preprints. 2020070119, <https://doi.org/10.20944/preprints202007.0119.v1>
- Dilzer A., Park Y., 2012. Implication of conjugated linoleic acid (CLA) in human health. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 52(6), 488–513. <https://doi.org/10.1080/10408398.2010.501409>
- Dmytrów I., Włodarczyk K., 2020. Skład i wartość odżywcza mleka kłaczki i osłicy w porównaniu z mlekiem krów. *Żywn. Nauka Technol. Jakość.* 27, 3 (124), 28–39.
- Faccia M., D’Alessandro A.G., Summer A., Hailu Y., 2020. Milk products from minor dairy species: a review. *Animals.* 10(8), 1260.
- Fangmeier M., Kemerich G.T., Machado B.L., Maciel M.J., Volken de Souza C.F., 2018. Effects of cow, goat, and buffalo milk on the characteristics of cream cheese with whey retention. *Food Sci. Technol.* 39(Suppl. 1). <https://doi.org/10.1590/fst.39317>
- Fox P.P., Uniacke-Lowe T., McSweeney P.L.H., O’Mahony J.A., 2015. *Dairy Chemistry and Biochemistry.* Springer International Publishing.

- GUS, 2020. Rocznik Statystyczny Przemysłu. Główny Urząd Statystyczny, Warszawa 2020, <https://stat.gov.pl/obszary-tematyczne/roczniki-statystyczne/roczniki-statystyczne/rocznik-statystyczny-przemyslu-2020,5,14.html> [dostęp: 23.03.2021].
- GUS, 2021. Dynamika produkcji sprzedanej przemysłu w lutym 2021 r., <https://stat.gov.pl/obszary-tematyczne/przemysl-budownictwo-srodki-trwale/przemysl/dynamika-produkcji-sprzedanej-przemyslu-w-lutym-2021-roku,13,26.html> [dostęp: 24.03.2021].
- Hinz K., O'Connor P.M., Huppertz T., Ross R.P., Kelly A.L., 2012. Comparison of the principal proteins in bovine, caprine, buffalo, equine and camel milk. *J. Dairy Res.* 79, 185–191.
- Ibrahim K.S., El-Sayed E.M., 2021. Dietary conjugated linoleic acid and medium-chain triglycerides for obesity management. *J. Biosci.* 46, 12.
- Kanwar J.R., Roy K., Patel Y., Zhou S-F., Singh M.R., Singh D., Nasir M., Sehgal R., Sehgal A., Singh R.S., Garg S., Kanwar R.K., 2015. Multifunctional iron bound lactoferrin and nanomedicinal approaches to enhance its bioactive functions. *Molecules.* 20(6), 9703–9731.
- Khan I.T., Nadeem M., Imran M., Ullah R., Ajmal M., Jaspal M.H., 2019. Antioxidant properties of Milk and dairy products: a comprehensive review of the current knowledge. *Lipids Health Dis.* 18(1), 41.
- Król J., Brodziak A., 2015. Białka mleka o właściwościach antybakteryjnych. *Probl. Hig. Epidemiol.* 96(2), 399–405.
- Król J., Brodziak A., Zaborska A., 2014. Białka serwatkowe jako naturalne surowce w przemyśle kosmetycznym. *Pol. J. Cosmetol.* 17(2), 96–102.
- Lad S.S., Aparnathi K.D., Mehta B., Velpula S., 2017. Goat milk in human nutrition and health – a review. *Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci.* 6(5), 1781–1792.
- Lipiński R., 2017. Raport o stanie branży kosmetycznej w Polsce 2017. 15 lat rozwoju, [https://www.kosmetyczni.pl/uploads/Biblioteka/Raport%20o%20stanie%20branzy%CC%87y%20kosmetycznej\\_www.pdf](https://www.kosmetyczni.pl/uploads/Biblioteka/Raport%20o%20stanie%20branzy%CC%87y%20kosmetycznej_www.pdf) [dostęp: 24.03.2021].
- Majewska K., Olender D., Pawełczyk A., Zaprutko T., Żwawiak J., Zaprutko L., 2010. Aktywne kosmetyki wśród produktów spożywczych. *Hom. Hominibus.* 6, 65–96.
- Moatsou G., Sakkas L., 2019. Sheep milk components: focus on nutritional advantages and bio-functional potential. *Small Rumin. Res.* 180, 86–99.
- Numpaque M., Sanli T., Anli E.A., 2019. Diversity of milks other than cow, sheep, goat and buffalo: in terms of nutrition and technological use. *Turk. J. Agric. Food Sci. Technol.*, 7(12), 2047–2053.
- Ospanov A., Toxanbayeva B., 2020. Switching to sheep's milk industry: problems and prospective. *Eurasia. J. Biosci.* 14, 1263–1271.
- Padilla P., Izquierdo M., Martínez-Trancón M., Parejo J.C., Rabasco A., Salazar J., Padilla J.Á., 2018. Polymorphisms of  $\alpha$ -lactalbumin,  $\beta$ -lactoglobulin and prolactin genes are highly associated with milk composition traits in Spanish Merino sheep. *Livestock Sci.* 217, 26–29.
- Park Y.W., Haenlein F.W., 2006. Handbook of Milk of Non-Bovine Mammals. Wyd. 1. Blackwell Publishing.
- PAIH, Polska Agencja Inwestycji i Handlu, 2017. The cosmetics market in Poland, <https://cosmetics.trade.gov.pl/en/polish-cosmetics-sector/262788,the-cosmetics-market-in-poland.html.pdf> [dostęp: 24.03.2021].
- Roy D., Ye A., Moughan P.J., Singh H., 2020. Composition, structure, and digestive dynamics of milk from different species – a review. *Front. Nutr.* 7:577759. <https://doi.org/10.3389/fnut.2020.577759>
- Selvaggi M., Laudadio V., Dario C., Tufarelli V., 2014. Investigating the genetic polymorphism of sheep milk proteins: a useful tool for dairy production. *J. Sci. Food Agric.* 94(15), 3090–3099.
- Seo Ch-W., Yoo B., 2020. Effect of  $\kappa$ -carrageenan/milk protein interaction on rheology and microstructure in dairy emulsion systems with different milk protein types and  $\kappa$ -carrageenan concentrations. *J. Food Process Preserv.* 45(1), e15038. <https://doi.org/10.1111/jfpp.15038>
- Soltani M., Say D., Guzeler N., 2017. Functional properties and nutritional quality of whey proteins. *J. Int. Environ. Appl. Sci.* 12(4), 334–338.

- Temerbayeva M., Rebezov M., Okuskhanova E., Zinina O., Gorelik O., Vagapova O., Beginer T., Gritsenko S., Serikova A., Yessimbekov Z., 2018. Development of yoghurt from combination of goat and cow milk. *Ann. Res. Rev. Biol.* 23(6), 1–7.
- Tsakali T., Bosdra K., Giannopoulos N.R., Koulouris S., Houhoula D., Tsaknis J., Akkermans S., Van Impe J.F.M., 2017. A preliminary study on the development of donkey milk based fermented product. *Sci. Rev. Chem. Commun.* 7(3), 115.
- Walker-Love A., 2017. Consumer Insights 2017, [https://cosmeticseurope.eu/files/6114/9738/2777/CE\\_Consumer\\_Insights\\_2017.pdf](https://cosmeticseurope.eu/files/6114/9738/2777/CE_Consumer_Insights_2017.pdf) [dostęp: 24.02.2021].
- Walkowiak K., Adamski M., Tumanowicz J., 2013. Mleko w przemyśle kosmetycznym. *Kosmet. Estet.* 3(2), 175–176.
- Wang X., Ren L., Yu X., Hu J., Chen Y., He G., Jiang Q., 2017. Antibiotic residues in meat, milk and aquatic products in Shanghai and human exposure assessment. *Food Control.* 80, 217–225. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2017.04.034>

## **Analiza rynku mlecznych produktów bezlaktozowych**

### Market analysis of lactose-free dairy products

Mleko i produkty mleczne są podstawowym składnikiem diety człowieka. Stanowią źródło dobrze przyswajalnego białka i tłuszczu oraz wielu niezbędnych witamin, makro- i mikroelementów kluczowych dla zapewnienia prawidłowego funkcjonowania organizmu. Należy podkreślić, że mleko i jego produkty są najlepszym źródłem łatwo przyswajalnego wapnia w codziennej diecie. Wapń jest najważniejszym składnikiem budulcowym kości i zębów. Ponadto jest odpowiedzialny za krzepliwość krwi i prawidłową pracę mięśni. Bierze również udział w prawidłowym funkcjonowaniu nerwów oraz krzepnięciu krwi [Brodziak i in. 2017, Kuczyńska i in. 2013]. Według najnowszych zaleceń Narodowego Centrum Edukacji Żywnościowej [2020] w codziennym jadłospisie powinny znaleźć się dwie szklanki mleka wymiennie na jogurt naturalny, kefir czy maślanekę. Nie każdy człowiek może jednak bez problemu spożywać mleko i jego produkty z uwagi na zawartość cukru mlekowego – laktozy. Szacuje się, że około 70% dorosłej populacji na świecie wykazuje ograniczoną ekspresję enzymu laktazy, w Polsce to w przybliżeniu 37% osób [Zatwarnicki 2014]. W większym stopniu problem ten dotyczy ludności krajów Azji. U osób, które cierpią na nietolerancję laktozy, spożycie mleka wiąże się z dolegliwościami ze strony przewodu pokarmowego. Producenci, wychodząc naprzeciw potrzebom takich konsumentów, wprowadzają na rynek coraz więcej różnych produktów o obniżonej zawartości laktozy, starając się przy tym zapewnić cechy sensoryczne i wartość odżywczą jak najbardziej zbliżone do produktów tradycyjnych.

### **Charakterystyka cukru mlekowego**

Laktoza to dwucukier redukujący, zbudowany z reszt d-glukozy i d-galaktozy połączonych wiązaniem  $\beta$ -1,4-glikozydowym [Zmarlicki 2009]. Naturalnie laktoza występuje w mleku ssaków. Jej zawartość wynosi od 1,1% w mleku delfina do 7% w mleku ludzkim (tab. 1). Wyjątkiem są lwy morskie, w których mleku laktoza występuje w śladowych ilościach [Schaafsma 2002, Ziarno 2006]. Laktoza nadaje mleku lekko słodki smak. W porównaniu z sacharozą czy glukozą jest mniej słodka, przez co korzystnie wpływa na regulację i prawidłowy rozwój zmysłu smaku oraz regulację łaknienia. Charakteryzuje się również niskim indeksem glikemicznym (46) w porównaniu z glukozą (100) czy sacharozą (68) [Strzałkowska i in. 2018].

Laktoza korzystnie wpływa na rozwój nowo narodzonych ssaków. Jest dla nich jedynym źródłem energii. Stwierdzono, że niemowlęta karmione mlekiem matki albo mieszaniną na bazie laktozy wykazywały wyższe stężenie glukozy i aminokwasów w krwi w

---

<sup>1</sup> Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, joanna.wajs@up.lublin.pl

porównaniu z niemowlętami karmionymi mlekiem niezawierającym laktozy [Varju i in. 2019]. Należy również pokreślić, że laktoza jest jedynym cukrem, który nie zwiększa ryzyka wystąpienia próchnicy zębów.

Tabela 1. Zawartość laktozy w mleku różnych gatunków zwierząt i człowieka [Schaafsma 2002, Ziarno 2006]

Wyszczególnienie	Zawartość laktozy w mleku [g/100 g]
Człowiek	7,0
Krowa	4,5–5,2
Koza	4,7–4,9
Owca	5,1
Klacz	6,9
Osioł	6,1
Świnia	5,0
Pies	3,8
Delfin	1,1

Trawienie i wchłanianie laktozy następuje w jelicie cienkim. Po spożyciu mleka laktoza jest rozkładana w jelicie cienkim przez enzym – laktazę do glukozy i galaktozy [Cielecka 2010, Ingram i in. 2009]. Galaktoza jest nieodzowna do syntezy galaktolipidów, tj. związków wpływających na rozwój i funkcjonowanie mózgu oraz układu nerwowego. Wzmacnia ponadto działanie glukozy, co ma znaczenie w pobudzaniu wydzielania insuliny u niemowląt i noworodków [Misselwitz in. 2019].

### Nietolerancja laktozy

Nietolerancja laktozy jest niezdolnością do trawienia tego disacharydu z powodu braku lub ograniczonej aktywności enzymu laktazy ( $\beta$ -D-galaktozydaza), która jest odpowiedzialna za hydrolizę tego cukru [Strzałkowska i in. 2018, Zmarlicki 2009]. Cukier rozkładany jest na glukozę i galaktozę, które z kolei są wchłaniane do krwiobiegu przez ściankę jelita. Laktaza jest wytwarzana w organizmie człowieka w rąbku szczoteczkowym jelita cienkiego. Jej aktywność została potwierdzona na powierzchni nabłonka komórki jelita zarodka już od 8. tygodnia ciąży. Największą aktywność  $\beta$ -galaktozydazy odnotowuje się w okresie niemowlęcym, kiedy głównym źródłem pokarmu dla młodego organizmu jest mleko matki. Z wiekiem aktywność laktazy spada, ponieważ mleko jest stopniowo zastępowane innymi produktami spożywczymi [Cielecka i wsp., 2010].

Wyróżnia się trzy typy nietolerancji laktozy/niedoboru laktazy: wrodzony, pierwotny i wtórny [Ingram i in. 2009, Strzałkowska i in. 2018]. Wrodzony niedobór laktazy (alaktajza) jest bardzo rzadką chorobą o podłożu genetycznym. To całkowity brak w rąbku szczoteczkowym jelita cienkiego enzymu laktazy. Pojawia się w pierwszych dniach życia noworodków. Nierozpoznana na bardzo wczesnym etapie, może być przyczyną śmierci [Varju i in. 2019]. Chorzy nie są zdolni do trawienia nawet niewielkich

ilości produktów zawierających laktozę. Objawami są silne biegunki, które prowadzą do odwodnienia organizmu, niedożywienia lub zaburzonego rozwoju psychoruchowego dziecka. W takim przypadku konieczne jest stosowanie diety bezlaktozowej przez całe życie [Sokołowska 2019].

Z kolei wtórny niedobór ma zazwyczaj charakter przejściowy. Jest powodowany uszkodzeniem błony śluzowej jelita cienkiego w wyniku przebiegu chorób takich jak mukowiscydoza, celiakia, enteropatia cukrzycowa. Mija wraz z regeneracją zniszczonych kosmków jelitowych jelita cienkiego. Może wystąpić w każdym wieku, najczęściej u niemowląt [Varju i in. 2019]. Objawy niedoboru laktazy występują w różnym nasileniu, zależnie od zaawansowania niedoboru. Nie jest konieczne wykluczenie laktozy z diety, należy skupić się na leczeniu choroby podstawowej. Produkty zawierające laktozę mogą być spożywane w dowolnych ilościach po wyleczeniu danej choroby [Sokołowska 2019].

Najczęściej spotykana jest nietolerancja pierwotna (hipolaktazja typu dorosłego), która postępuje wraz z wiekiem z uwagi na sukcesywne zmniejszanie się aktywności laktazy [Zatwarnicki 2014]. U osób dorosłych nietolerancja spowodowana jest zwykle niskim spożyciem mleka. Jest ono wtedy eliminowane z diety lub zastępowane innymi produktami mleczarskimi, co prowadzi do obniżenia lub zahamowania produkcji laktazy przez organizm [Zmarlicki 2009]. Pierwotny niedobór laktazy dziedziczony jest w sposób autosomalny recesywny. Ten typ niedoboru laktazy dotyczy 70% populacji na świecie. Charakteryzuje się obniżaniem aktywności laktazy wraz z wiekiem, od wczesnego dzieciństwa aż do dorosłości, kiedy aktywność laktazy stanowi około 10% wartości oznaczanej u niemowląt. Objawy rozwijają się stopniowo, ich nasilenie postępuje z wiekiem. Większość chorych toleruje jednorazowo około 12 g laktozy. Niektóre osoby cierpiące na hipolaktazję tolerują produkty o obniżonej zawartości laktozy, np. jogurty, maślanki, sery pleśniowe. Reakcja na spożytą laktozę jest indywidualną cechą chorych [Andrzejewska 2015]. Osoby z pierwotną nietolerancją laktozy powinny zmniejszyć lub całkowicie wyeliminować z diety produkty zawierające laktozę. Ten typ niedoboru występuje u około 20–25% osób dorosłych i 1,5% niemowląt i dzieci w Polsce. Jest najczęściej pojawiającym się typem niedoboru laktazy [Rychlik i Marszałek 2013].

Wyróżnia się również rozwojowy niedobór laktazy, który występuje u większości wcześniaków urodzonych przed 34. tygodniem ciąży. Nie wymaga leczenia, ustępuje wraz z rozwojem śluzówki jelita. Ma charakter łagodny, przemijający [Andrzejewska 2015].

Nietolerancja laktozy objawia się wystąpieniem różnych dolegliwości ze strony przewodu pokarmowego, np. biegunką, bólami brzucha, wzdęciami, uczuciem pełności, gazami, burczeniem i uczuciem przelewania w jelitach. Może również wywołać objawy zespołu jelita wrażliwego [Varju i in. 2019]. U wielu pacjentów mogą występować także objawy ogólnoustrojowe, tj. ból głowy, zmęczenie, ból w mięśniach czy utrata koncentracji [Szajewska i Horvath 2017]. Intensywność objawów zależy zazwyczaj od ilości spożytego mleka oraz stopnia niedoboru  $\beta$ -galaktozydazy. Nie ma jednolitej minimalnej dawki laktozy, która powoduje objawy kliniczne u pacjentów z rozpoznaną nietolerancją tego disacharydu. Większość pacjentów nie wykazuje objawów klinicznych nawet po wypiciu dwóch szklanek mleka. Nasilenie i charakter objawów nietolerancji laktozy zależy od wieku. U niemowląt najczęściej występuje biegunka osmotyczna, u dzieci i dorosłych są to bóle brzucha, wzdęcia, uczucie pełności, gazy, przelewanie w żołądku [Marszałek i Rychlik 2013]. Niestrawiona laktoza podnosi ciśnienie osmotyczne w jelicie, co



powoduje biegunkę, która może doprowadzić do niedożywienia i odwodnienia organizmu [Zatwarnicki 2014]. Objawy mogą występować osobno lub się łączyć, najczęściej od połowy godziny do 12 godzin od spożycia posiłków mlecznych. Osoby z nietolerancją laktozy wykazują niedobory wapnia wynikające z braku umiejętności jego absorpcji z produktów mlecznych przez ich organizm [Rychlik i Marszałek 2013].

Diagnostyka przyczyn nietolerancji laktozy polega na wywiadzie lekarskim i obrazie klinicznym oraz na bezpośrednich i pośrednich badaniach diagnostycznych. Najczęściej stosowanym badaniem rozpoznającym nietolerancję laktozy jest wodorowy test oddechowy. Polega ona na tym, że podaje się pacjentowi dawkę laktozy, po czym monitoruje się stężenie wodoru w wydychanym powietrzu. Zwiększenie stężenia wodoru oznacza, że laktoza nie jest trawiona przez laktazę, a fermentowana przez bakterie jelitowe. Innymi badaniami stosowanymi do zdiagnozowania nietolerancji laktozy są: badanie pH stolca, bezpośrednie badanie aktywności laktazy w biopsacie błony śluzowej jelita cienkiego oraz doustne testy tolerancji laktozy. W związku z rozwinięciem się technik biologii molekularnej wykorzystywanych do rozpoznania chorób genetycznych stosuje się również testy genetyczne do rozpoznania niedoboru laktazy [Zatwarnicki 2014].

### Produkty mleczne dla osób z nietolerancją laktozy

Osoby z nietolerancją laktozy, aby dostarczyć organizmowi wszystkie potrzebne składniki mleka, mogą wprowadzić do diety produkty o obniżonej zawartości laktozy lub takie, które jej nie zawierają.

Zawartość laktozy w produktach mlecznych jest zróżnicowana, zależy głównie od procesu technologicznego. Procesy fermentacji mlekowej prowadzą do zmniejszenia zawartości laktozy w produkcie (tab. 2).

Tabela 2. Zawartość laktozy w wybranych produktach mlecznych [Misselwitz i in. 2019, Ziarno 2006]

Produkt	Zawartość laktozy [g/100 g]
Kefir	4,1
Maślanka	3,0
Jogurt naturalny	3-4
Jogurt owocowy	5,0
Śmietana	3,9-4,1
Ser gouda, cheddar	0,1
Ser twarogowy tłusty	2,9
Ser twarogowy chudy	3,1
Ser topiony	1-3
Masło	0,5
Lody	4,4-6,4

W napojach fermentowanych (np. w kefirach, jogurtach), maśle oraz serach dojrzewających i twarogach zawartość laktozy jest niższa w porównaniu z mlekiem. Produkty te zawierają wytworzoną przez bakterie fermentacji mlekowej aktywną  $\beta$ -D-galaktozydazę oraz częściowo zhydrolizowaną laktozę (30–50% pierwotnej zawartości laktozy mleka). Zawartość pozostałych substancji odżywczych mleka pozostaje bez zmian lub zmiany te są nieznaczne. Fermentacja powoduje ponadto większą strawność składników i łatwiejszy dostęp dla organizmu. Dodatkowo szczepy bakterii mlekowych *Bifidobacterium lactis* i *Lactobacillus bulgaricus* produkują w przewodzie pokarmowym laktazę egzogenną, co ułatwia trawienie laktozy. Spożywanie fermentowanych produktów mlecznych przez osoby nietolerujące laktozy może znacznie złagodzić dolegliwości związane z nietolerancją [Mojka 2013].

Zawartość laktozy w produktach mlecznych można obniżyć lub całkowicie zredukować przy zastosowaniu następujących technik: enzymatycznej, membranowej i chromatograficznej. Wiąże się to ze wzrostem kosztów produkcji, a co za tym idzie, podniesieniem cen finalnych produktów. Mimo to są one coraz częściej kupowane, a ich dostępność na rynku jest coraz większa. Najczęściej produkty o obniżonej zawartości laktozy otrzymuje się przez enzymatyczną hydrolizę podczas procesu produkcyjnego. Proces hydrolizy laktozy przeprowadza się przy użyciu preparatów  $\beta$ -D-galaktozydazy (laktazy). W praktyce produkcyjnej dąży się do uzyskania kompromisu pomiędzy niezbędnym stopniem hydrolizy laktozy w mleku a kosztem związanym z obróbką enzymatyczną. Zwyczajowo przeprowadza się obróbkę do uzyskania rozkładu laktozy w 70–80%. Należy jednak podkreślić, że uzyskanie hydrolizy laktozy na poziomie 50–80% jest wystarczające dla większości konsumentów z jej nietolerancją [Sokołowska 2019].

Jako pierwsze na rynek zostało wprowadzone mleko spożywcze bezlaktozowe, które najczęściej występuje w postaci mleka UHT, rzadziej jako mleko pasteryzowane. Zawiera ono w 100 ml około 0,25 g laktozy.

Inną opcją dla osób cierpiących na nietolerancję laktozy są suplementy, w których zawarte są enzymy pochodzenia mikrobiologicznego. Wykorzystuje się do tego szczepy bakterii, pleśni i drożdży, jak np. *Aspergillus niger*, *Aspergillus oryzae* oraz *Kluyveromyces lactis*. Wszystkie preparaty stosowane w suplementacji są kontrolowane pod względem czystości mikrobiologicznej, co zapewnia konsumentowi możliwość bezpiecznego korzystania po wcześniejszym skonsultowaniu się z dietetykiem lub lekarzem [Baranowska i in. 2014].

Celem niniejszych badań była analiza rynku produktów mlecznych bezlaktozowych na przykładzie rynku lubelskiego. W tym celu przeprowadzono przegląd oferty handlowej lubelskich sklepików osiedlowych, dyskontów i supermarketów.

### **Zestawienie produktów bezlaktozowych dostępnych na rynku**

W ofercie handlowej mleczne produkty bezlaktozowe wyróżniają się – pakowane są jak analogiczne typowe produkty, ale ich cechą charakterystyczną jest fioletowy odcień opakowania oraz napis „bez laktozy”. Na polskim rynku znajduje się wiele produktów bezlaktozowych zarówno polskich, jak i zagranicznych producentów. Wprowadzają oni na rynek najczęściej odpowiedniki produktów klasycznych. W ich ofercie znajdują się takie produkty jak: mleko i śmietany o różnej zawartości tłuszczu, jogurty naturalne, smakowe, pitne oraz typu greckiego, sery twarogowe, serki wiejskie, masło, lody. Istnieje

również duży wybór serów podpuszczkowych. Spośród polskich producentów największą gamę produktów bezlaktozowych oferują: Grupa Mlekovita, SM Łowicz czy SM Mlekpól (tab. 3). Oprócz mleka spółdzielnie te wytwarzają jogurty, masło, śmietanę oraz różnego typu sery i serki.

Tabela 3. Asortyment mlecznych produktów bezlaktozowych polskich producentów dostępny na rynku lubelskim

Producent	Produkt
Łowicz	Serek wiejski bez laktozy Twaróg łowicki półtłusty bez laktozy Serek homogenizowany waniliowy z laską wanilii bez laktozy Śmietanka łowicka UHT bez laktozy 12% Śmietanka łowicka UHT do kawy bez laktozy 10% Mleko Łowickie UHT bez laktozy 1,5% Ser tyłżycki/gouda bez laktozy Masło ekstra łowickie bez laktozy Jogurt grecki <i>light</i> bez laktozy Jogurt naturalny bez laktozy 2,5% Serek homogenizowany naturalny bez laktozy Serek wiejski bez laktozy
Mlekovita	Twaróg półtłusty bez laktozy Serek wiejski bez laktozy Serek wiejski polski bez laktozy Ser gouda bez laktozy plastry/blok Ser Sokół bez laktozy plastry/blok Ser Havarti bez laktozy plastry/blok Mleko Wydojone UHT bez laktozy 3,2% i 1,5% tłuszczu Jogurt polski bez laktozy różne smaki Jogurt polski pitny bez laktozy różne smaki Śmietana Polska 18% bez laktozy Masło extra polskie bez laktozy 82% tł.
Bakoma	Jogurt naturalny bez laktozy Jogurt naturalny pitny bez laktozy
Mlekpól	Twaróg chudy/półtłusty/tłusty Klinek bez laktozy Jogurt owocowy bez laktozy
Piątnica	Mleko wiejskie 2% bez laktozy Serek wiejski bez laktozy Jogurt naturalny 3,5% bez laktozy

Wśród dostawców zagranicznych najbardziej rozbudowaną ofertą produktów bezlaktozowych dysponuje OMIRA Niemcy (marka Minus-L) posiadająca w ofercie poza produktami klasycznymi również bitą śmietanę, pudding mleczny oraz ser mozzarella

(tab. 4). Największy wybór pod względem różnorodności mlecznych produktów bezlaktozowych stwierdzono w supermarketach (Kaufland, Tesco), gdzie były dostępne produkty od różnych dostawców (krajowych i zagranicznych), jak również marki własne. W sieciach dyskontowych (Biedronka, Lidl) dostępne były przede wszystkim produkty bezlaktozowe marek własnych (tab. 5). Na rynku pojawiły się też lody śmietankowo-czekoladowe bez laktozy, czekolada bezlaktozowa czy cukierki krówki.

Tabela 4. Asortyment mlecznych produktów bezlaktozowych dostawców zagranicznych dostępny na rynku lubelskim

Producent	Produkt
OMIRA – Minus L	Mleko UHT bez laktozy o zawartości tłuszczu: 3,8%; 1,5% i 0,3% Ser mozzarella bez laktozy Ser feta bez laktozy Jogurt naturalny bez laktozy Ser topiony tostowy plastry bez laktozy Ser topiony do smarowania bez laktozy Ser camembert 45% tł. bez laktozy Masło 82% bez laktozy Ser gouda bez laktozy plastry Bitka śmietana w sprayu bez laktozy 30% UHT Ser tostowy bez laktozy – plastry Ser kremowy do smarowania bez laktozy Śmietana 30% UHT bez laktozy 200 ml Ser żółty w plastrach (gouda, emmentaler, tyłżycki) bez laktozy Śmietana kwaśna 24% bez laktozy Pudding mleczny bez laktozy (waniliowy, czekoladowy) Ser tarty półtwardy 45% Emmentaler bez laktozy
Arla	Serek kremowy, naturalny bez laktozy Ser solankowy w kostkach o obniżonej zawartości tłuszczu bez laktozy Ser cheddar bez laktozy Mix tłuszczowy, lekko solony bez laktozy Mleko UHT bez laktozy 1,5% i 3,5% tłuszczu
Heirler	Ser emmentaler/gouda bez laktozy plastry Ser z ziołami 50% bez laktozy plastry Mleko 3,5% UHT bez laktozy Jogurt naturalny/owocowy/waniliowy 3,5% bez laktozy Śmietana kremowa 30% bez laktozy Śmietanka do kawy bez laktozy
Hohland	Ser: gouda/edamski/mazdamer/emmentaler/tyłżycki bez laktozy Ser gouda wędzony bez laktozy
Berchtesgadner Land	Jogurt owocowy/waniliowy/naturalny 3,5% bez laktozy Śmietana 30% bez laktozy Mleko bez laktozy 1,5% i 3,5% tłuszczu

Tabela 5. Marki własne mlecznych produktów bezlaktozowych dostępne na rynku lubelskim

Sieć handlowa	Marka własna	Produkt
Biedronka	Delikate (Turek)	Puszysty serek śmietankowy bez laktozy
	Delikate (Mlekwita)	Serek wiejski bez laktozy
	Mleczna Dolina (Łowicz)	Masło ekstra bez laktozy Mleko UHT bez laktozy 3,2% i 1,5% tłuszczu
	Światowid (Mlepol)	Ser: mazdamer/gouda bez laktozy plastry
	Fruvita (Lactalis)	Jogurt naturalny bez laktozy
Lidl	Pilos	Śmietana 20% bez laktozy Jogurt owocowy bez laktozy Lekko ukwaszona śmietanka Crème Fraîche bez laktozy (z pieprzem, cebulą, chili)
Tesco	Tesco Free From	Śmietana UHT 30% bez laktozy Śmietana 20% bez laktozy Jogurt naturalny/owocowy bez laktozy Mleko 1,5% bez laktozy
Kaufland	K-Classic	Mleko UHT bez laktozy 3,8% i 1,5% tłuszczu Mleko 1,5% świeże bez laktozy Jogurt naturalny bez laktozy Śmietana bez laktozy 33% i 30% tłuszczu

### Podsumowanie

Rynek lubelski, wychodząc naprzeciw oczekiwaniom konsumentów, oferuje szeroki asortyment produktów bezlaktozowych od dostawców zarówno polskich, jak i zagranicznych. Produkty te są dostępne w dyskontach i supermarketach, jak również małych sklepikach. Największy wybór pod względem różnorodności tej grupy produktów stwierdzono w supermarketach. W sieciach dyskontowych przeważały produkty marek własnych.

### Bibliografia

- Andrzejewska M., 2015. Nietolerancja laktozy, istotne zagadnienie żywieniowe i medyczne. *Żyw. Człow. Metab.* 42(4), 253–256.
- Baranowska M., Batyk I.M., Dąbrowska A.Z., Hryniawska M., Kujawski M., Roszkowska B., 2014. Ocena dostępności i zapotrzebowania na produkty mleczarskie o obniżonej zawartości laktozy. *J. Health Sci.* 4, 107–122.
- Brodziak A., Król J., Barłowska J., 2017. Mleko i produkty mleczne źródłem składników biologicznie czynnych. *Przem. Spoż.* 71(10), 8–13.
- Cielecka K. E., Dereń K., 2010. Nadwrażliwość pokarmowa. *Alerg. Astma Immunol.* 15(3), 118–124.
- Gajewska D., 2005. Słodko-gorzkie oblicza cukru. *Przegl. Gastron.* 6, 8–9.

- Górski J., 2010. Na bakier z laktozą. *Forum Mlecz. Biznes* 5, 8–10.
- Ingram C.J., Mulcare C.A., Itan Y., Thomas M.G., Swallow D.M., 2009. Lactose digestion and the evolutionary genetics of lactase persistence. *Human Genet.* 124(6), 579–591.
- Kuczyńska B., Nałęcz-Tarwacka T., Puppel K., 2013. Bioaktywne składniki jako wyznaczniki jakości prozdrowotnej mleka. *Med. Rodz.* 1, 11–18.
- Messia M.C., Candigliota T., Marconi E., 2007. Assessment of quality and technological characterization of lactose- hydrolyzed milk. *Food Chemistry*, 104, 910– 917.
- Misselwitz B., Butter M., Verbeke K., Fox M.R., 2019. Update on lactose malabsorption and intolerance: pathogenesis, diagnosis and clinical management. *Gut.* 68(11), 2080–2091, <https://doi.org/10.1136/gutjnl-2019-318404>.
- Mojka K., 2013. Charakterystyka mlecznych napojów fermentowanych. *Problemy Higieny i Epidemiologii*, 94 (4), 722– 729.
- Narodowe Centrum Edukacji Żywnościowej, 2020.
- Rychlik U., Marszałek A., 2013. Nietolerancja laktozy – współczesny stan wiedzy. *Diagnost. Laborator. Intern.* 49(1), 71–73.
- Schaafsma G., 2002. Nutritional significance of lactose and lactose derivatives. W: *Encyclopedia of Dairy Sciences*, F. Fox (red.). Academic Press, London, UK.
- Sokołowska O., 2019. Produkty bezlaktozowe: pozabawianie laktozy. *Forum Mlecz. Biznes.* 1(35).
- Strzałkowska N., Jasińska K., Jóźwik A., 2018. Physico-chemical properties of lactose, reasons for and effects of its intolerance in humans – a review. *Animal Sci. Paper Rep.* 36(1), 21–31.
- Szajewska H., Horvath A., 2017. *Żywnienie i leczenie żywieniowe dzieci i młodzieży*. Wyd. Medycyna Praktyczna.
- Varjú P., Gede N., Szakács Z., Hegyi P., Zazacu I.M., Pécsi D., Fábíán A., Szepes Z., Vincze Á. Tenk J., Balaskó M., Rumbus Z., Garami A., Csupor D., Czimmer J., 2019. Lactose intolerance but not lactose maldigestion is more frequent in patients with irritable bowel syndrome than in healthy controls: a meta-analysis. *Neurogastroenterol. Motil.* 31(5), e13527. <https://doi.org/10.1111/nmo.13527>
- Zatwarnicki P., 2014. Nietolerancja laktozy – przyczyny, objawy, diagnostyka. *Piel. Zdr. Publ.* 4(3), 273–275.
- Ziarno M., 2006. Mleko krowie jest bardzo zdrowe, ale nie dla wszystkich. Nietolerancja laktozy i galaktozy. *Przem. Spoż.* 60(3), 38–40.
- Zmarlicki S. Wartość odżywcza białek mleka, tłuszczu mlekowego, laktozy. *Przem. Spoż.* 63(11), 33– 37.

## **Mikroplastik w kosmetykach – analiza składu kosmetyków oraz wpływ mikroplastiku na środowisko**

Microplastic in cosmetics – analysis of the composition of cosmetics and the impact of microplastic on the environment

Dotychczas nie opracowano oficjalnej czy prawnie obowiązującej definicji pojęcia „mikroplastik”. Mianem tym określa się stałe cząstki z tworzywa sztucznego (drobiny polimerów syntetycznych) o wielkości mniejszej niż 5 mm, nierozpuszczalne w wodzie, które mogą tworzyć morskie odpady [Moore 2008, Fendall i Sewell 2009, Leslie 2014]. Cosmetics Europe (europejskie stowarzyszenie handlowe w branży kosmetyków i higieny osobistej) w 2015 r. określiło plastikowe mikrogranulki jako celowo dodawane, nierozpuszczalne w wodzie, stałe cząstki z tworzywa sztucznego o wielkości 5 mm lub mniejszej, które są używane do złuszczenia lub oczyszczania w splukiwanych produktach do pielęgnacji osobistej. Inne definicje podają, że mikroplastik to mikrogranulki o średnicy 25 mm lub poniżej 1 mm [Leslie 2014]. Mikroplastik oraz makroplastik są odpadami morskimi zgodnie z Dyrektywą Ramową w sprawie strategii morskich [Marine Strategy Framework Directive 2008/56/WED 2008]. Należy pamiętać, że wszystkie tworzywa syntetyczne są wykonane z polimerów, jednak, ze względu na stan skupienia i rozpuszczalność w wodzie, nie każdy polimer to mikroplastik [Leslie 2014, Grobelna 2017]. Mikroplastik jest zazwyczaj stosowany w środkach do mycia twarzy i innych kosmetykach przeznaczonych do higieny [Zitko i Hanlon 1991]. Mikrogranulki zawarte w produktach mogą różnić się kształtem, rozmiarem i składem [Gregory 1996, Fendall i Sewell 2009]. Gregory [1996] wykazał, że średnica polietylenu i polipropylenu w produkcie do mycia rąk, peelingu do twarzy oraz do ciała wynosiła < 5 mm, zaś polistyrenu < 2 mm. W Nowej Zelandii preparat do mycia rąk oraz peeling do twarzy zawierały mikroplastik o średnicy < 0,63 μm.

### **Wpływ polimerów syntetycznych na formułę kosmetyku**

Plastikowe mikrogranulki są szeroko stosowane jako ściernie środki czyszczące w wielu produktach higienicznych i kosmetykach do pielęgnacji ciała, w tym w pastach do zębów, środkach do mycia rąk, mydłach, szamponach, płynach do kąpieli, żelach pod prysznic i peelingach [Fendall i Sewell 2009], ale mikroplastik w formie syntetycznych polimerów może występować również w kremach, cieniach do oczu, dezodorantach,

---

<sup>1</sup> Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, Wydział Biologii Środowiskowej, Studenckie Koło Naukowe Biologów, Sekcja Biokosmetologii, elizawargala@gmail.com

<sup>2</sup> Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, Wydział Biologii Środowiskowej, Katedra Hydrobiologii i Ochrony Ekosystemów

Tabela 1. Przykłady polimerów syntetycznych występujących w kosmetykach jako mikroplastik oraz ich funkcje [opracowanie na podstawie: Leslie 2014, CosIng i nomenklatury systemu INCI]

Nazwa wg INCI*	Nazwa polska	Funkcja w formułacji produktu wg bazy CosIng i działanie kosmetyczne
Nylon-12	poliamid-12	środek wypełniający, regulujący lepkość, zmętniający, substancja filmotwórcza (np. w kremach przeciwzmarszczkowych)
Nylon-6	poliamid-6	wypełniacz, składnik regulujący lepkość
Polyethylene terephthalate	poli(tereftalan) etylenu	składnik filmotwórczy, regulacja lepkości; środek estetyczny (np. błyszczą w płynie do kąpieli, produktach do makijażu)
Poly pentaerythryl terephthalate	poli(tereftalan pentaerytrylu)	składnik filmotwórczy
Polypropylene terephthalate	poli(tereftalan propylenu)	składnik stabilizujący emulsję, odżywiający skórę
Polyethylene	polietylen	środek ścierny, filmotwórczy, regulujący lepkość, spoiwo do pudrów
Polypropylene	polipropylen	wypełniacz, środek zwiększający lepkość (częsty w peelingach do ciała i twarzy oraz pastach do zębów jako ścierniwo)
Polystyrene	polistyren	składnik filmotwórczy
Polytetrafluoroethylene	Politetrafluoroetylen (teflon)	wypełniacz oraz substancja stabilizująca i regulująca lepkość, błonotwórczy, nabłyszczający, nie przepuszcza wody, tworzy twardą powłokę ochronną
Polyurethane	poliuretan	składnik filmotwórczy (np. maseczki na twarz, kremy przeciwśłoneczne, tusze do rzęs, preparaty do włosów)
Polyacrylate	poliakrylan	składnik regulujący lepkość, lepiszcze – substancja wiążąca składniki kosmetyków wytwarzanych w formie stałej
Acrylates copolymer	kopolimer akrylanów	modyfikator reologii, zwiększa lepkość produktu. Stabilizator emulsji zwykłych i silikonowych, chroni m.in. przed rozwarstwianiem, przedłuża trwałość (w lakierach do paznokci i produktach do przedłużania paznokci - spoiwo, substancja utwardzająca lakier)
Allyl stearate/va copolymer	stearynian allilu/ kopolimery octanu winylu	składnik błonotwórczy, utrwalacz włosów
Ethylene/propylene/styrene copolymer	kopolimery etylenu / propylenu / styrenu	składniki regulujące lepkość
Methyl acrylate copolymer	kopolimer akrylanu metylu	składnik filmotwórczy
Butylene/ethylene/styrene copolymer	kopolimer butylenu / etylenu / styrenu	regulacja lepkości
Styrene acrylates copolymer	kopolimer styrenowo-akrylowe	funkcje estetyczne (kolorowe mikrosfery, np. w produktach do makijażu)
Trimethylsiloxy-silicate	trimetylosiloksykrzemian (żywica silikonowa)	składnik filmotwórczy

\* Niektóre polimery mogą być dostępne w różnych formach jako dyspersje w rozpuszczalnikach lub jako częściowo rozpuszczalne w wodzie postaci polimerów. INCI – międzynarodowe nazewnictwo składników kosmetycznych podanych polimerów.



pułdach, podkładach pod makijaż, lakierach do włosów, lakierach do paznokci, płynnych produktach do makijażu, tuszach do rzęs, kremach do golenia, produktach dla dzieci, środkach odstraszających owady i filtrach przeciwsłonecznych. „Plastikowe” składniki są obecne w produktach w różnych odsetkach – od ułamka do ponad 90% w niektórych przypadkach [Becker i in. 2014]. W wielu produktach mikroplastik zastępuje naturalne związki złuszczające, takie jak łupiny moreli czy pumeks. Oprócz funkcji głębokiego oczyszczania i usuwania martwego naskórka mikrogranulki w wielu produktach pełnią również rolę dekoracyjną i ozdobną [Miraj i in. 2019]. Polimery syntetyczne mają jednak znacznie szersze znaczenie w formulacji produktów kosmetycznych w zależności od rodzaju polimeru, składu, wielkości, kształtu (tab. 1) [Leslie 2014]. Stanowią one regulatory lepkości, emulgatory, środki błonotwórcze i filmotwórcze, zmętniające, ciekłe absorbenty, spoiwa, wypełniacze, błyszczki, odżywki do skóry i włosów. Służą także do kontrolowanego czasowego uwalniania różnych składników aktywnych, jako faza sorpcyjna do dostarczania substancji zapachowych, witamin, olejków, nawilżaczy, środków odstraszających owady. Wykorzystywane są także jako filtry przeciwsłoneczne. Wydłużają okres przydatności do spożycia przez uwięzienie rozkładalnych składników aktywnych w porowatej matrycy cząstek (skutecznie chronią substancję czynną przed bakteriami, które są zbyt duże, aby dostać się do porów cząstek). Funkcje tych polimerów wyraźnie wykraczają poza dobrze znany, dobrze nagłośniony efekt peelingu plastikowych mikrogranulek.

### **Wpływ mikroplastiku na środowisko**

Tworzywa sztuczne stanowią coraz większe zagrożenie dla środowiska. Odpady z tworzyw sztucznych pochodzenia lądowego stanowią około 80% plastiku znajdującego się w morzach [Andrady 2011]. Obecność mikroplastiku w wodzie może prowadzić do jego połknięcia przez różne organizmy wodne, co wpływa negatywnie na ich funkcjonowanie. Cząsteczki mikroplastiku mogą przejść przez morski łańcuch pokarmowy, na którego szczycie znajdują się ludzie. Dlatego prawdopodobnie również spożywamy mikrodrobiny plastiku znajdującego się w pożywieniu. Ponadto mikroplastik, który występuje w bardzo dużym rozdrobieniu, charakteryzuje się dużą powierzchnią właściwą, a to stwarza możliwość adsorpcji substancji toksycznych (np. takich jak polichlorowane bifenyle PCBs), które w etapie końcowym mogą kumulować się w organizmach żywych [Grobela 2017, Jardak 2016, Siegfried 2017]. Mikroplastik nie ulega biodegradacji i po dostaniu się do środowiska jest prawie niemożliwy do usunięcia. Używanie płynów do mycia ciała lub kosmetyków zawierających mikrodrobiny plastiku może stanowić zagrożenie dla wód słonych, słodkich, ale również dla człowieka. W Europie przeprowadzono badanie w zakresie analizy ilościowej mikroplastiku. W 2012 roku wykazano, że we wszystkich krajach Unii Europejskiej wykorzystano 4360 ton mikroplastiku.

Mikroplastik dzieli się na pierwotny i wtórny, w zależności od tego, czy został pierwotnie wykonany (kosmetyki) lub powstał wtórnie w wyniku rozpadu większych fragmentów plastiku (opony samochodowe, farby, plastikowe torebki itp.) [Jambeck i in. 2015]. Mikroplastik stosowany zarówno w kosmetykach, jak i w środkach czystości może przedostawać się do środowiska morskiego poprzez systemy kanalizacyjne i rzeki lub zanieczyszczenie z lądu [Moore 2008, Thompson i in. 2004] oraz poprzez domowe lub przemysłowe systemy odwadniające [Derraik 2002]. Duża część mikrogranulek przenika

przez systemy filtrujące sit oczyszczalni ścieków i trafia do oceanów [Browne i in. 2007, Fendall i Swell 2009, Vesilend 2003]. W latach 90. nastąpił przełom i mikroplastik w kosmetykach zaczęto zastępować naturalnymi surowcami [Gregory 1996]. Obecnie wiele organizacji stara się zidentyfikować różne potencjalne źródła zanieczyszczenia środowiska mikroplastikiem, aby pokierować procesem decyzyjnym dotyczącym działań chroniących środowisko przed tym zanieczyszczeniem [Leslie 2014].

Celem pracy była analiza składu różnych, losowo wybranych produktów kosmetycznych pod kątem zawartości polimerów syntetycznych, przeprowadzona na podstawie informacji o składzie produktu znajdującej się na etykiecie kosmetyku oraz w oparciu o bazę CosIng i nomenklaturę INCI. Ponadto w pracy przedyskutowano wpływ mikroplastiku na środowisko naturalne.

## **Materiały i metody**

### **Identyfikacja polimerów syntetycznych w kosmetykach**

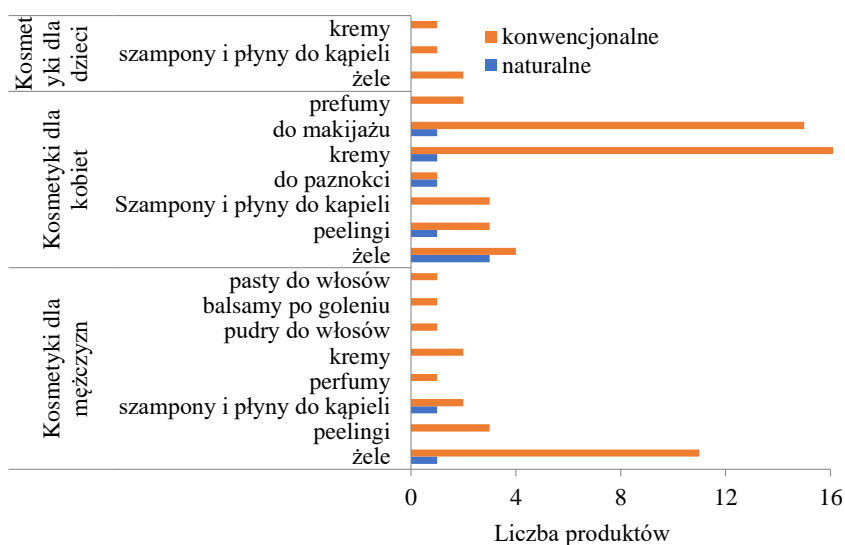
Analizie składu deklarowanego przez producenta pod kątem zawartości polimerów syntetycznych mogących stanowić mikroplastik poddano 582 losowo wybrane produkty kosmetyczne podzielone na trzy kategorie: produkty dla kobiet, mężczyzn i dzieci oraz na kategorie związane z przeznaczeniem pielęgnacyjnym produktu. Uwzględniono deklaracje producentów dotyczące określenia produktów jako naturalne, w tym biologiczne, organiczne, ekologiczne i certyfikowane jako takie, z wyłączeniem produktów wegańskich (w niniejszej pracy kosmetyki te określa się mianem naturalnych). Pozostałe kosmetyki sklasyfikowano jako konwencjonalne. Dane zebrano w oparciu o analizę opakowań i etykiet kosmetyków pod kątem oznakowania i składu produktów (ingredients). Korzystając z dokumentacji, sporządzono bazę danych zawierającą składniki zawarte w preparatach. Na podstawie bazy CosIng oraz literatury specjalistycznej [Leslie 2014, Grobelna 2017] zidentyfikowano polimery syntetyczne. Przeanalizowano częstość ich występowania w porównywanych kategoriach. Nazewnictwo podano za INCI (International Nomenclature of Cosmetic Ingredients), przyjęte przez CosIng.

### **Analiza statystyczna**

W celu zbadania korelacji pomiędzy występowaniem szukanych substancji w poszczególnych kategoriach produktów kosmetycznych wykorzystano techniki ordynacyjne. Przeanalizowano zależność występowania polimerów syntetycznych w produktach kosmetycznych dla trzech zbiorów danych: A – podział na produkty naturalne i konwencjonalne a polimery syntetyczne, B – podział ze względu na kraj produkcji a polimery syntetyczne, C – przeznaczenie kosmetyków dla mężczyzn, kobiet i dzieci a polimery syntetyczne. Aby zmierzyć długość gradientu zbiorów kosmetyków przeprowadzono analizę DCA. Długość gradientu analizowanych danych wynosiła poniżej 3 SD, w związku z czym do dalszej analizy zastosowano liniową technikę ordynacji RDA. Analiza Monte Carlo z 499 permutacjami posłużyła do określenia najważniejszych, istotnych statystycznie zmiennych. Analizy wykonano w oprogramowaniu o program CANOCO 4.5 dla systemu Windows [Braak i Šmilauer 2002].

## Wyniki

Przeanalizowano 582 produkty kosmetyczne podzielone na produkty dla kobiet, mężczyzn i dzieci oraz ze względu na przeznaczenie pielęgnacyjne (ryc. 1). Polimery syntetyczne stwierdzono w składzie deklarowanym przez producentów w 85 produktach (ryc. 1), przy czym w 54 (z 381) produktach kosmetycznych przeznaczonych dla kobiet, w 27 (ze 119) produktach dla mężczyzn i w 4 (z 82) produktach dla dzieci. Substancje te występowały częściej w produktach konwencjonalnych niż deklarowanych jako naturalne (ryc. 1). Najczęściej polimery stwierdzano w produktach naturalnych w przypadku kosmetyków dla kobiet. Dominującymi polimerami były Acrylates C10-C30 Alkyl Acrylates Crosspolymer i Polyquaternium-7 (tab. 2, 3). Produkty, w których składzie stwierdzono polimery syntetyczne, pochodziły z 16 krajów, w tym najwięcej kosmetyków wyprodukowano w Polsce (47), Francji (38) i Niemczech (15).



Ryc. 1. Liczba i kategorie kosmetyków naturalnych i konwencjonalnych, w których składzie stwierdzono polimery syntetyczne

### Polimery syntetyczne w kosmetykach dla mężczyzn

Spośród 119 produktów kosmetycznych przeznaczonych dla mężczyzn 27 miało w swoim składzie polimery syntetyczne (tab. 2). Stanowi to 22,7% badanych produktów dla mężczyzn i 4,6% produktów ogółem. Najczęściej występującym związkiem był Polyquaternium-7 oraz Acrylates/C10-30 Alkyl Acrylate Crosspolymer. Poza tym stwierdzono obecność trzech innych substancji. Były to polyethylene, nylon-12 i Acrylates Copolymer. Polimery syntetyczne występowały najczęściej w żelach pod prysznic, do ciała, twarzy i włosów. Stwierdzono je w jednym kosmetyku oznaczonym przez producenta jako naturalny, przy czym produkt ten nie posiadał certyfikatu żadnej znanej instytucji certyfikującej produkty naturalne.

Tabela 2. Polimery syntetyczne w produktach kosmetycznych dla mężczyzn z uwzględnieniem przeznaczenia produktu i marki

Polimery syntetyczne (nazwa INCI)	Żele pod prysznic, do ciała, twarzy i włosów	Peelingi	Szampony i płyny do kąpieli	Perfumy	Kremy	Pudry do włosów	Balsamy po goleniu	Pasty do włosów
Polyquaternium-7	8 - Adidas, - Nivea, - Nivea, - Nivea, - Palmolive, - Nivea, - Neutrogena, - Palmolive		2 - Monolit, - Adidas					
Polyethylene		1 - Bielenda						
Nylon 12						1 - Reuzel		
Acrylates/C10-30 alkyl acrylate crosspolymer	4 - Tołpa, - Schwarzkopf, - Tołpa*, - Joanna	1 - AA			2 - L'Oreal - Eveline Cosmetics		1 - Ziaja	1 - Schwarzkopf
Acrylates copolymer	2 - Nivea, - Nivea	2 - Natura Siberica, - Bielenda	1 - Nivea	1 - Calvin Klein				
Suma	14	4	3	1	2	1	1	1

\* – produkt oznaczony przez producenta jako naturalny

### Polimery syntetyczne w kosmetykach dla kobiet

Spośród 381 produktów kosmetycznych przeznaczonych dla kobiet 54 miało w swoim składzie deklarowanym przez producentów polimery syntetyczne (tab. 3). Stanowi to 14,2% badanych produktów dla kobiet oraz 9,3% ogółu produktów. Najczęściej występującym związkiem był Acrylates/C10-30 Alkyl Acrylate Crosspolymer, którego obecność stwierdzono w 18 produktach. Polimery syntetyczne występowały najczęściej w kremach i produktach do makijażu. Stwierdzono je w dziewięciu kosmetykach oznaczonych przez producentów jako naturalne.

Produkty, w których stwierdzono Acrylates/C10-30 Alkyl Acrylate Crosspolymer, oznaczone przez producentów jako naturalne to: żel do mycia ciała i twarzy firmy Cosmetics, który posiadał certyfikat wegański, bio i naturalny, peeling do ciała firmy Tołpa, oznaczonym jako naturalny i wegański, żel peelingujący firmy Be Beauty. Acrylate Copolymer stwierdzono w składzie dziewięciu kosmetyków. Trzy produkty zawierające ten związek były oznaczone przez producentów jako naturalne. Były to: puder do twarzy firmy Paese z certyfikatami wegańskim i naturalnym, odżywka do paznokci firmy Eveline Cosmetics z certyfikatami wegańskim i naturalnym oraz krem Bielenda. Kolejnym popularnym związkiem był Nylon-12, który stwierdzono w składzie pięciu produktów. Były to cienie do oczu firmy Max Factor, bronzer do twarzy

Eveline, krem do twarzy dla kobiet powyżej 45 roku życia firmy Vichy, podkład Fenty Beauty by Rihanna, podkład Eveline, a także oznaczony jako wegański róż do policzków. Methyl Methacrylate Crosspolymer obecny był w pięciu produktach. Były to trzy podkłady do twarzy (Eveline, Loreal, Maybelline), a także krem firmy La Roche-Posay, który oznaczony jest jako dermokosmetyk i produkt hipoalergiczny, oraz kosmetyk do makijażu produkcji koreańskiej Skin79. Pozostałe polimery występowały rzadziej (tab. 3).

Tabela 3. Polimery syntetyczne stwierdzone w produktach kosmetycznych dla kobiet z uwzględnieniem przeznaczenia produktu i marki

Polimery syntetyczne (nazwa INCI)	Żele pod prysznic, do ciała, twarzy i włosów	Peelingi	Szampony i płyny do kąpieli	Paznokcie	Kremy	Makijaż	Perfumy
1	2	3	4	5	6	7	8
Acrylates/C10-30 Alkyl Acrylate Crosspolymer	3 - Eveline Cosmetics*, - Be Beauty*, - Vital Pharma	3 - Hean*, - Tołpa *, - Hean Natura	1 - Artego		10 - Clarins, - Cetaphil, - Biotherm, - Dermedic, - AA, - Neutrogena, - Lirene, - Dermedic, - Evree, - Skin79		1 - Lirene
Polyethylene		1 - Hean Natura			1 - Lirene	4 - Rimmel London, - Fenty Beauty By Rihanna - Revolution, - Clinque	
Nylon 12					1 - Vichy	5 - Max Factor, - Eveline Cosmetics, - Fenty Beauty By Rihanna, - Revolution, - Eveline Cosmetics	
Acrylate Copolymer	2 - Senctura, - Bielenda	1 - Natura Siberica		2 - Eveline Cosmetics, - Eveline Cosmetics*	2 - Bielenda*, - Nivea	2 - Paese*, - Bell	
Styrene Copolymer			1 - Nivea		1 - Clarins		

1	2	3	4	5	6	7	8
Acrylates/C12-22 Alkyl Methacrylate Copolymer						2 - Rimmel London, - Bell	
Methyl Methacrylate Crosspolymer					1 - La Roche-Posay	4 - Eveline Cosmetics, - L'Oreal, - Maybelline, - Skin79	
Polymethylsilsesquioxane					1 - Biotherm		
Polyquaternium-7	1 - Le Petit Marseillais*		1 - L'oreal				1 - Dove
Acrylates Beheneth-25 Methacrylate Copolymer					1 - Bielenda		
Polypropylene						1 - Fenty Beauty By Rihanna	
Suma	6	5	3	2	18	18	2

\* – produkty oznaczone przez producentów jako naturalne

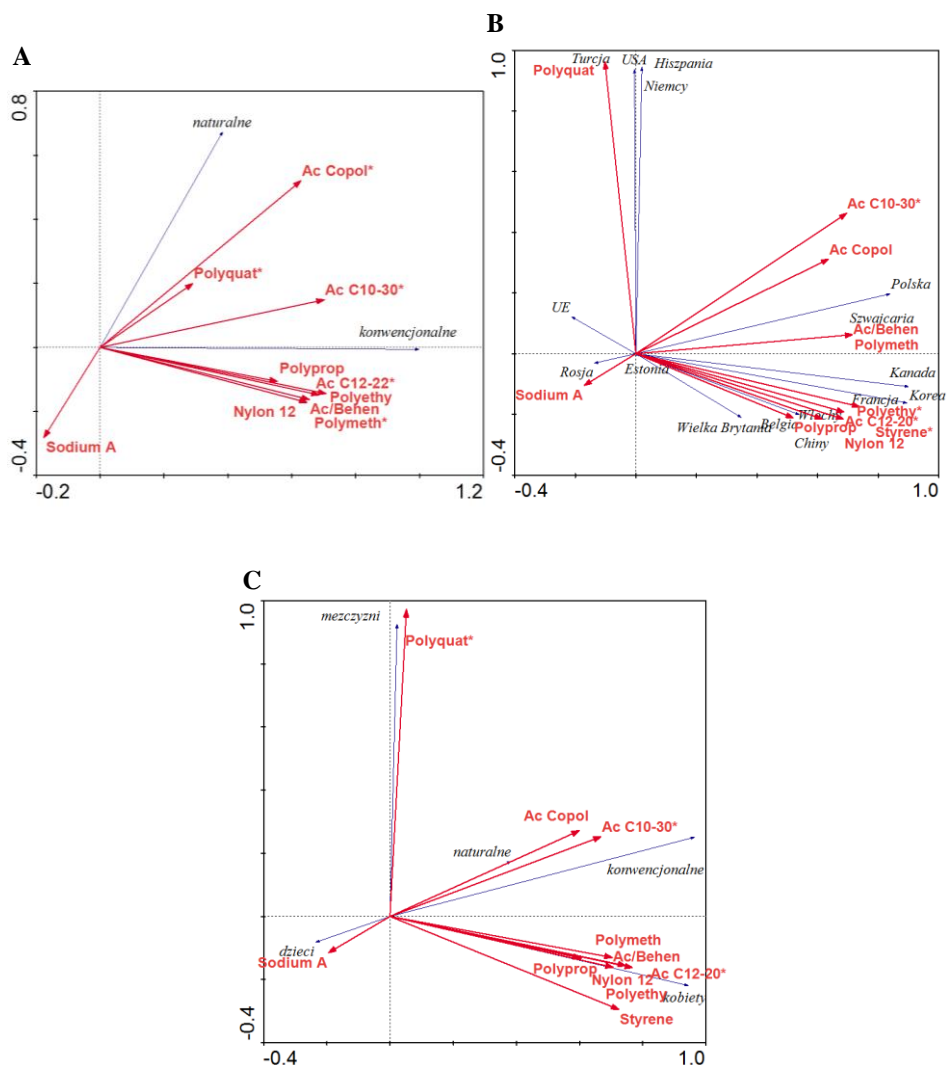
W peelingu do ciała firmy Hean Natura stwierdzono występowanie dwóch polimerów syntetycznych, tj. Polyetylene oraz Acrylates/C10-C30, Alkyl Acrylate Crosspolymer. Podobnie dwie substancje stwierdzono w kremie pod oczy firmy Biotherm (Polymethylsilsesquioxane i Acrylates/C10-C30, Alkyl Acrylate Crosspolymer).

### Polimery syntetyczne w kosmetykach dla dzieci

Spośród 82 produktów kosmetycznych przeznaczonych dla dzieci cztery miały w swoim składzie polimery syntetyczne. Stanowi to 4,9% badanych produktów dla dzieci oraz 0,7% produktów ogółem. W produktach dla dzieci (głównie higienicznych) stwierdzono Acrylates Copolymer, Polyquaternium-7 oraz Sodium Acrylates Copolymer.

Tabela 4. Polimery syntetyczne w produktach kosmetycznych dla dzieci z uwzględnieniem przeznaczenia produktu i marki

Polimery syntetyczne (nazwa wg INCI)	Żele do ciała	Szampony	Kremy
Acrylates Copolymer	1 - Ziaja		
Polyquaternium-7		1 - Nivea baby	
Sodium Acrylates Copolymer	1 - Oilatum Baby		1 - IBSS BIOMED S.A.
Suma	2	1	1



**Ryc. 2.** Diagram obrazujący zależność ordynacyjną pomiędzy: A – kosmetykami określanymi przez producentów jako naturalne oraz kosmetykami konwencjonalnymi a występującymi w nich polimerami syntetycznymi. Oś I i II. Wartości własne osi: I-0,977, II-0,011, III-0,010, IV-0,001; B – krajem produkcji kosmetyku a polimerami syntetycznymi występującymi w składzie produktu. Oś I i II. Wartości własne osi: I-0,484, II-0,268, III-0,109, IV-0,055; C – przeznaczeniem kosmetyku a polimerami. Oś I i II. Wartości własne osi: I-0,784, II-0,156, III-0,008, IV-0,002 (detrrending by segments, bez transformacji). Gwiazdki wskazują istotnie statystycznie zmienne ( $p < 0,05$  test permutacji Monte Carlo). Polyquat – Polyquaternium-7, Ac Copol – Acrylates Copolymer, Ac C10-30 – Acrylates/C10-30 Alkyl Acrylate Crosspolymer, Ac C12-22 – Acrylates/C12-22 Alkyl Methacrylate Copolymer, Polyprop – Polypropylene, Polyethy – Polyethylene, Ac/Behen – Acrylates Beheneth-25 Methacrylate Copolymer, Polymeth – Polymethylsilsesquioxane, Sodium A – Sodium Acrylates Copolymer

## **Analiza statystyczna**

Analiza redundancji (RDA, ryc. 2A) wykazała silną pozytywną korelację pomiędzy takimi substancjami, jak Polyquaternium-7 i Acrylates Copolymer, a kosmetykami określanymi mianem naturalnych, zaś większość pozostałych substancji, w tym Acrylates/C10–30 Alkyl Acrylate Crosspolymer, korelowała pozytywnie z kosmetykami konwencjonalnymi, przy czym statystycznie istotnymi zmiennymi były substancje najczęściej stwierdzone w badanych produktach. Analiza wykazała także (ryc. 2B) pozytywną zależność pomiędzy częstotliwością występowania Polyquaternium-7 a kosmetykami produkcji niemieckiej, hiszpańskiej, amerykańskiej i tureckiej. Acrylates Copolymer, Acrylates/C10–30 Alkyl Acrylate Crosspolymer, Acrylates Beheneth, Polymethylsilsesquioxane korelowały dodatnio z kosmetykami wyprodukowanymi w Polsce, zaś pozostałe substancje, w tym istotnie statystycznie zmienne, korelowały z produkcją francuską i włoską. RDA wykazała również (ryc. 2C) silną, dodatnią korelację pomiędzy występowaniem Polyquaternium-7 a produktami dla mężczyzn, bardzo słabą pozytywną korelację pomiędzy Acrylates Copolymer, Acrylates/C10-30 Alkyl Acrylate Crosspolymer a produktami dla mężczyzn i kobiet oraz ujemną dla produktów dla dzieci. Pozostałe substancje silnie korelowały z produktami przeznaczonymi dla kobiet.

## **Dyskusja**

### **Mikroplastik w kosmetykach**

Uzyskane wyniki wykazały obecność substancji określanych mianem polimerów syntetycznych w 85 z 582 produktów kosmetycznych. Należy uwzględnić, że jeśli składnik nie występuje w postaci stałej, nie spełnia kryterium definicji mikroplastiku i nie będzie się przyczyniał do powstawania plastikowych odpadów [Leslie 2014]. Co istotne, nie można określić, czy kosmetyki zawierają mikroplastik analizując nazwy składników na etykiecie produktu: składniki o tej samej nazwie mogą być używane jako cząstki stałe w jednym produkcie lub jako płyn w innym. Przykładem jest polyquaternium-10. Dotychczas nie powstała żadna oficjalna lista substancji, które należałoby uznać za mikroplastik. Jednakże wiele organizacji pozarządowych próbuje usystematyzować dotychczasową wiedzę i podejmuje próby utworzenia wykazu potencjalnych polimerów, które mogą występować w postaci mikrogranulek. Listy takie opracowały Plastics Europe (stowarzyszenie producentów tworzyw sztucznych w Europie), niemieckie stowarzyszenie BUND (Bund für Umwelt und Naturschutz Deutschland) oraz Cosmetics Europe. Brak jednolitej i prawnie zatwierdzonej definicji mikroplastików, a co za tym idzie wykazu substancji spełniających kryteria tego pojęcia, generuje szereg problemów oraz nieścisłości w stosunku do dynamicznie zmieniającej się sytuacji ewentualnych ograniczeń dotyczących stosowania plastikowych mikrogranulek. W Unii Europejskiej producenci nie mają obowiązku oznaczania mikroplastiku w składzie produktu kosmetycznego [Grobela 2017], więc dla osoby, która chce unikać zakupu produktów zawierających mikroplastik, jedynym wyborem jest wyeliminowanie zakupu produktów zawierających na liście składników nazwy polimerów syntetycznych i wybór marek oferujących produkty naturalne,



zwłaszcza certyfikowane przez uznane instytucje certyfikujące, co potwierdziły nasze badania. Tymczasem, jak wykazały analizy, wiele konwencjonalnych produktów, zwłaszcza peelingów i żeli do mycia, zawiera w swoim składzie cząsteczki polimerów syntetycznych mogących stanowić mikroplastik. Szacuje się, że podczas jednokrotnego użycia ze środka złuszczonego może zostać uwolnionych od 4594 do 94 500 mikrogranulek [Napper i in. 2015]. Polimery syntetyczne, w tym mikroplastiki, znajdują się zarówno w kosmetykach spłukiwanych (żele pod prysznic, szampony, mydła, produkty do koloryzacji, odżywiania i rozjaśniania włosów), jak i niespłukiwanych (produkty do pielęgnacji ciała, ust, włosów, paznokci, produkty do makijażu, dezodoranty) [Anagnosti i in. 2021], co potwierdziły nasze badania. Plastikowe mikrogranulki pełnią funkcję złuszczącą, oczyszczającą, a także dekoracyjną [Juliano i Magrini 2017]. W produktach higieny osobistej około 93% mikrogranulek składa się z polietylenu [Gouin i in. 2015], ale mogą być także wykonane z polipropylenu, nylonu, politereftalanu etylenu lub polimetakrylanu metylu [Napper i in. 2015]. Część z tych substancji stwierdzono w analizowanych produktach. Cząstki te dodawane są do produktów do pielęgnacji ciała, głównie do płynów do mycia twarzy i past do zębów, a także do środków do mycia rąk, peelingów do twarzy, szamponów [Juliano i Magrini 2017, Tagg i Ivar do Sul 2019]. Podstawowym mikroplastikiem złożonym z politereftalanu etylenu (PET) jest brokat, którego szkodliwość może równać się ze szkodliwością innych mikroplastików [Tagg i Ivar do Sul 2019, Yurtsever 2019]. W produktach kosmetycznych brokat pełni funkcję dekoracyjną i jest szerzej wykorzystywany niż mikrogranulki [Yurtsever 2019]. Produktami, które zawierają cząsteczki brokatu, są m.in. lakiery do paznokci, farby do ciała, cienie do powiek [Tagg i Ivar do Sul 2019]. Cosmetics Europe i Europejskie Stowarzyszenie Higieny Osobistej wykazały, że na rynku w krajach UE, w Norwegii i Szwajcarii wykorzystywanych jest 4360 ton plastikowych mikrogranulek [Gouin i in. 2015]. W celu ograniczenia emisji mikroplastiku do środowiska wiele krajów wprowadziło środki i zakazy stosowania go w produktach kosmetycznych. W 2015 roku powstała amerykańska ustawa o wodach wolnych od mikrogranulek, zabraniająca wykorzystywania w kosmetykach spłukiwanych tych tworzyw sztucznych [Rist i Hartmann 2018].

### **Negatywne konsekwencje rozkładu mikroplastiku**

Podczas rozpadu plastiku uwalniają się substancje szkodliwe, do których należą bisfenol A, ftalany, fenole, kadm, ołów, chrom i triklosan [Hansen i in. 2013, Matthew 2011]. Bisfenol A zwiększa ryzyko zapadania na choroby nowotworowe [Soto i Sonnenschein 2010], zaś oktynofenol oraz nonylofenol wpływają negatywnie na układ hormonalny [Dudziak i Bodzek 2009]. Polichlorowane bifenyle (PCB), wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne (WWA) czy metale ciężkie pochłaniają zanieczyszczenia obecne w procesie oczyszczania ścieków i oddają je w specjalnych odbiornikach ścieków oczyszczonych. Cząsteczki mikroplastiku są także wektorami potencjalnie patogennych mikroorganizmów [Hammer i in. 2012, Imran i in. 2019]. Ftalany mogą powodować zaburzenia hormonalne, przyczynić się do zmniejszenia płodności oraz powstawania zmian nowotworowych [Lewkowicz-Siejka 2014]. Powyższe odkrycia wymuszają pytanie o trwałość mikroplastiku w produktach kosmetycznych i ewentualne negatywne następstwa stosowania produktów zawierających syntetyczne polimery, w tym mikroplastik, dla

zdrowia konsumentów. Naukowcom udało się wyizolować bakterie zdolne do degradacji i asymilacji poli(tereftalanu etylenu (PET) [Yoshida i in. 2016], więc istnieje nadzieja, że w przyszłości zamiast recyklingu będziemy biodegradować tworzywa sztuczne. Jednakże dotychczasowa wiedza naukowa i możliwości technologiczne wskazują na pilną konieczność zaprzestania stosowania mikroplastiku.

### **Wpływ mikroplastiku na środowisko**

Mikroplastik negatywnie wpływa na ryby oraz inne zwierzęta wodne. Niewielkie rozmiary mikroplastiku sprzyjają dostawaniu się go do treści żołądkowo-jelitowych poprzez pobieranie razem z pokarmem. Z treści pokarmowej ługowane są również monomery mikroplastiku, które mają charakter nowotworowy, toksyczny oraz zaburzają gospodarkę hormonalną [Imran i in. 2019]. Mikroplastik odkładający się w tkankach zwierząt jest bezpośrednio zjadany przez człowieka. Częstki mikroplastiku unoszące się na wodzie zostały wykorzystane jako łęgowisko do składania jaj przez bezkręgowce *Halobates sericeus*, co spowodowało zwiększenie liczebności tego owada. Jaja tego osobnika zjadane są przez kraby i ryby, co prowadzi do przemieszczania się mikroplastiku do kolejnych ogniw łańcucha pokarmowego [Goldstein i in. 2012]. Częstki mikroplastiku zjadane są przez fito- i zooplankton, bezkręgowce wodne i żyjące w strefie przybrzeżnej, w tym larwy szkarłupni, piaskówkę *Arenicola marina*, omułka jadalnego *Mytilusedulis*, stawonogi, zwłaszcza kraba brzegowego *Carcinusmaenas*, ryby oraz bezpośrednio lub pośrednio, jako ogniwa końcowe w łańcuchu pokarmowym, również przez ptaki [Bogusz i Cejner 2015, Herzke i in. 2016, Akpan 2014, Thompson i in. 2004]. Mikroplastik może dostać się do organizmów zwierząt także przez układ oddechowy [Akpan 2014, Thompson i in. 2004]. Wykazano, że niektóre ryby denne, w zetknięciu z mikroplastikami, mogą chcieć je spożyć [Wright i in. 2013]. Wydalenie resztek pokarmu organicznego z organizmu zwierzęcia morskiego trwa ok. 2 dni, częstki mikroplastiku mogą zalegać w układzie pokarmowym zwierzęcia 14 dni lub dłużej, gdyż należą do tworzyw sztucznych i nie rozkładają się tak szybko, jak organiczna materia [Akpan 2014]. Naukowcy w badaniach przeprowadzonych na kurach domowych *Gallus domesticus* stwierdzili, iż spożywanie cząstek mikroplastiku prowadzi u kur do zmniejszenia łaknienia, obniżenia poziomu hormonów steroidowych, blokowania wydzielania enzymów trawiennych oraz do opóźnienia cyklu owulacyjnego skutkującego zmniejszeniem reprodukcijności ptaków [Bogusz i Cejner 2015, Ryan 1987].

### **Podsumowanie**

Spośród 582 produktów kosmetycznych, których skład przeanalizowano pod kątem zawartości polimerów syntetycznych związki te stwierdzono w 85 produktach, co stanowi 14,6% ogółu badanych kosmetyków. Substancje te najczęściej występowały w kosmetykach przeznaczonych dla mężczyzn, w tym głównie w produktach do mycia ciała i włosów. By uniknąć zakupu produktów zawierających mikroplastik, należy wybierać te, które w swoim składzie nie zawierają nazw polimerów syntetycznych, oraz produkty naturalne, w tym certyfikowane przez uznane, międzynarodowe organizacje certyfikujące.

## Bibliografia

- Akpan N., 2014. Microplastics lodge in crab gills and guts. *Sci. News*, 9.
- Anagnosti L., Varvaresou A., Pavlou P., Protopapa E., Carayanni V., 2021. Worldwide actions against plastic pollution from microbeads and microplastics in cosmetics focusing on European policies. Has the issue been handled effectively? *Mar. Pollut. Bull.* 162, 1–15. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2020.111883>
- Andrady A.L., 2011. Microplastics in the marine environment. *Mar. Pollut. Bull.* 62, 1596–1605.
- Becker L.C., Bergfeld W.F., Belsito D.V., Hill R.A., Klaassen C.D., Liebler D.C., James G. Marks Jr J.G., Shank R.C., Slaga T.J., Snyder P.W., Andersen F.A., 2014. Safety assessment of modified terephthalate polymers as used in cosmetics. *Int. J. Toxicol.* 33(3), 36S–47S. <https://doi.org/10.1177/1091581814537001>
- Bogusz A., Cejner M., 2015. Mikroplastiki w środowisku wodnym – pochodzenie, akumulacja zanieczyszczeń oraz wpływ na organizmy wodne. [W:] *Nauka w służbie przyrodzie – wybrane zagadnienia*, Olszówka M., Maciąg K. (red.). Fundacja na rzecz promocji nauki i rozwoju TY-GIEL, 61–73.
- Browne M.A., Galloway T., Thompson R., 2007. Microplastic – an emerging contaminant of potential concern? *Integr. Environ. Assess. Manag.* 3, 559–561. <https://doi.org/10.1002/IEAM.5630030412>
- CosIng, the European Commission database for information on cosmetic substances and ingredients, <https://ec.europa.eu/growth/tools-databases/cosing/index.cfm?fuseaction=search.simple>
- Derraik J.G.B., 2002. The pollution of the marine environment by plastic debris: a review. *Mar. Pollut. Bull.* 44, 842–852. [https://doi.org/10.1016/S0025-326X\(02\)00220-5](https://doi.org/10.1016/S0025-326X(02)00220-5)
- Dudziak M., Bodzek M., 2009. Badania zawartości ksenoestrogenów w wodzie metodą ekstrakcji sorpcyjnej. *Ochr. Środ.* 1 (31), 9–14.
- Fendall L.S., Sewell M.A., 2009. Contributing to marine pollution by washing your face: microplastics in facial cleansers. *Mar. Pollut. Bull.* 58(8), 1225–1228. DOI: 10.1016/j.marpolbul.2009.04.025
- Goldstein M.C., Rosenberg M., Cheng L., 2012. Increased oceanic microplastic debris enhances oviposition in an endemic pelagic insect. *Biol. Lett.* 8, 817–820. <https://doi.org/10.1098/rsbl.2012.0298>
- Gouin T., Avalos J., Brunning I., Brzuska K., de Graff J., Kaumanns J., Koning T., Meyberg M., Rettinger K., Schlatter H., Thomas J., van Welie R., Wilk T., 2015. Use of Micro-Plastic Beads in Cosmetic Products in Europe and Their Estimated Emissions to the North Sea Environment. *SOFW-Journal* 141, 40–46.
- Gregory M.R., 1996. Plastic ‘scrubbers’ in hand cleansers: a further (and minor) source for marine pollution identified. *Mar. Pollut. Bull.* 32, 867–871.
- Grobelna B., 2017. Mikroplastiki w kosmetykach – surowce zastępcze. *Polski Klub Ekologiczny. Okręg Morski*. <http://pke.gdansk.pl/wp-content/uploads/2017/03/W5-Mikroplastiki-w-kosmetykach-wyk%C5%82ad.pdf>
- Hammer J., Kraak M., Parsons J., 2012. Plastics in the marine environment: the dark side of a modern gift. *Rev. Environ. Contam. Toxicol.* 1–44.
- Hansen E., Nilsson N.H., Lithner D., Lassen C., 2013. Hazardous substances in plastic materials. COWI in cooperation with Danish Technological Institute, 7–8.
- Herzke D., Anker-Nilssen T., Nøst T.H., Götsch A., Christensen-Dalgaard S., Magdalene Langset M., Fangel K., Koelmans A.A., 2016. Negligible impact of ingested microplastics on tissue concentrations of persistent organic pollutants in Northern Fulmars off coastal Norway. *Environ. Sci. Technol.* (50), 1924–1933. <https://doi.org/10.1021/acs.est.5b04663>
- Imran M., Das K., Naik M., 2019. Co-selection of multi-antibiotic resistance in bacterial pathogens in metal and microplastic contaminated environments: An emerging health threat; *Chemosphere*, 215.
- Jambeck J.R., Andrady A., Geyer R., Narayan R., Perryman M., Siegler T., Wilcox C., Lavender Law K., 2015. Plastic waste inputs from land into the ocean. *Science* 347, 768–771.
- Jardak K., Drogui P., Daghrir R., 2016. Surfactants in aquatic and terrestrial environment: Occurrence, behavior, and treatment processes. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 23, 3195–3216.

- Juliano C., Magrini G., 2017. Składniki kosmetyków jako pojawiające się zanieczyszczenia mające wpływ na środowisko i zdrowie. *Mini-przegląd. Kosmetyki* 4(2), 1–18, <https://doi.org/10.3390/cosmetics4020011>
- Lewkowicz-Siejka K., 2014. Ftalany i teflon. Poznaj wroga – toksyczne substancje wokół nas. *Znaki Czasu* 6.
- Leslie H.A., 2014. Review of microplastics in cosmetics. IVM Institute for Environmental Studies, 476, 1–33.
- Marine Strategy Framework Directive. Directive 2008/56/EC of the European Parliament and of the council of 17 June 2008 establishing a framework for community action in the field of marine environmental policy. <https://eur-lex.europa.eu>
- Matthew C., 2011. Microplastics as contaminants in the marine environment: A review. *Mar. Pollut. Bull.* 62, 2588–2597.
- Miraj, S.S., Parveen, N.; Zedan, H.S., 2019. Plastic microbeads: Small yet mighty concerning. *Int. J. Environ. Health Res.* 1–17
- Moore C.J., 2008. Synthetic polymers in the marine environment: A rapidly increasing, long term threat. *Environ. Research* 108, 131–139.
- Napper I.E., Bakir A., Rowland S.J., Thompson R.C., 2015. Charakterystyka, ilość i właściwości sorpcyjne mikroplastików pozyskiwanych z kosmetyków. *Mar. Pollut. Bull.* 99 (1–2), 178–185. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2015.07.029>
- Rist S., Hartmann N.B., 2018. Aquatic Ecotoxicity of microplastics and nanoplastics: lessons from engineered nanomaterials. *Freshwater Microplastic* 25–49, [https://doi.org/10.1007/978-3-319-61615-5\\_2](https://doi.org/10.1007/978-3-319-61615-5_2)
- Ryan P.G., 1987. The effects of ingested plastic on seabirds: Correlations between plastic load and body condition. *Environ. Pollut.* 46(2), 119–125.
- Siegfried M., Koelmans A., Besseling E., Kroeze C., 2017. Export of microplastics from land to sea. A modelling approach. *WaterResearch* 127, 249–257.
- Soto A., Sonnenschein C., 2010. Environmental causes of cancer: endocrine disruptors as carcinogens. *Nat Rev Endocrinol* 6(7), 363–370. <https://doi.org/10.1038/nrendo.2010.87>
- Tagg A.S., Ivar do Sul J.A., 2019. Czy to twój blask? Przeoczony, ale potencjalnie cenny dla środowiska mikroplastik. *Mar. Pollut. Bull.* 146, 50–53, <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2019.05.068>
- ter Braak C.J., Šmilauer P, 2002. CANOCO reference manual and CanoDraw for Windows user's guide: software for canonical community ordination (ver. 4.5)
- Thompson R.C., Olsen, Y., Mitchell R.P., Davis A., Rowland S.J., John A.W.G., McGonigle, D., Russel A.E., 2004. Lost at sea: where is all the plastic? *Science* 304, 838.
- Wright S., Thompson R.C., Galloway T.S. 2013. The physical impacts of microplastics on marine organisms: A review. *Environ. Pollut.* 178, 483–492. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2013.02.031>
- Vesilind P.A., 2003. Wastewater Treatment Plant Design. Water Environment Federation, Virginia, USA, 251–252.
- Yoshida S., Hiraga K., Takehana T., Taniguchi I., Yamaji H., Maeda Y., Toyohara K., Miyamoto K., Kimura Y., Oda K., 2016. A bacterium that degrades and assimilates poly(ethylene terephthalate), *Science*, 351 (6278), 1196–1199. <https://doi.org/10.1126/science.aad6359>
- Yurtsever M., 2019. Błyszczy jako źródło pierwotnych mikroplastików: podejście do odpowiedzialności za środowisko i etyki. *J. Agric. Environ. Ethics.* 32(3), 459–478. <https://doi.org/10.1007/s10806-019-09785-0>
- Zitko V., Hanlon M., 1991. Another source of pollution by plastics: skin cleansers with plastic scrubbers. *Mar. Pollut. Bull.* 22, 41–42.