

# Żywność dzisiaj

Lokalna czy globalna,  
tradycyjna czy innowacyjna?

Monografia pokonferencyjna

Redakcja

Monika Beszterda-Buszczak

Monika Przeor



# *Żywność dzisiaj*

Lokalna czy globalna,  
tradycyjna czy innowacyjna?

XXVI Sesja Naukowa  
Sekcji Młodej Kadry Naukowej

## Żywność dzisiaj

lokalna czy globalna?  
tradycyjna czy innowacyjna?

IXth International  
Session of Young Scientific Staff

## Food nowadays

local or global?  
traditional or innovative?



Poznań, 19-20.05.2022r.

Konferencja została zorganizowana przez  
Polskie Towarzystwo Technologów Żywności  
Sekcję Młodej Kadry Naukowej  
Oddział Wielkopolski w Poznaniu  
19–20 maja 2022 r.

# *Żywność dzisiaj*

Lokalna czy globalna,  
tradycyjna czy innowacyjna?

Monografia pokonferencyjna

Redakcja

Monika Beszterda-Buszczak

Monika Przeor

### **Przewodniczący Komitetu Redakcyjnego**

prof. dr hab. Jacek Wójtowski

### **Redaktor Wydziału Nauk o Żywności i Żywieniu**

prof. UPP dr hab. inż. Julita Reguła

### **Recenzent**

prof. dr hab. Anna Żbikowska

Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie



**Ministerstwo  
Edukacji i Nauki**

Konferencja i monografia pokonferencyjna zostały dofinansowane przez Ministerstwo Edukacji i Nauki na podstawie umowy nr DNK/SN/512883/2021 ze środków przeznaczonych na działalność upowszechniającą naukę w ramach programu „Doskonała Nauka”. Nazwa projektu: „XXVI Sesja Naukowa Sekcji Młodej Kadry Naukowej”.

### **Organizatorzy**



**UNIwersytet  
PRZYRODNICZY  
W POZNANIU**

Copyright © by Wydawnictwo Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu, Poznań 2022



Książka jest dostępna na licencji Creative Commons – Uznanie autorstwa-  
-Użycie niekomercyjne-Bez utworów zależnych 4.0 Międzynarodowe (CC BY-NC-ND 4.0)

Opracowanie redakcyjne: Paulina Kaczmarek

Projekt, opracowanie graficzne i przygotowanie do druku: Stanisław Tuchołka / panbook.pl

Projekt okładki: Tomasz Adamski / exemplum.pl

ISBN 978-83-67112-27-7

ISBN wersji elektronicznej 978-83-67112-29-1

ark. wyd. 9,2 ark. druk. 8,1

Wydawnictwo Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu  
ul. Witosa 45, 61-693 Poznań

Druk i oprawa  
Zakład Graficzny Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu  
ul. Wojska Polskiego 67, 60-625 Poznań

Wersja elektroniczna dostępna w serwisie <https://www.ibuk.pl/>

## Spis treści

Słowo wstępne .....	7
<i>Ewelina Sidor, Alicja Strzałka, Małgorzata Dżugan</i>	
Analiza aktywności antyoksydacyjnej miodów z dodatkiem mandarynek i goździków .....	9
<i>Agata Zaremba, Natalia Cichoń, Krystyna Szymandera-Buszka</i>	
Projekt produktu pochodzenia roślinnego wzbogaconego burakiem fortyfikowanym jodem .....	22
<i>Natalia Szarek, Grażyna Jaworska</i>	
Wpływ działania promieniowania mikrofalowego na miążgę buraka ćwikłowego i na właściwości prozdrowotne soku .....	37
<i>Piotr Klimowicz, Hanna Iwan, Aneta Tomczak, Marcin Hejdysz, Sebastian Kaczmarek, Adam Cieślak, Ewa Springer, Magdalena Zielińska-Dawidziak</i>	
Skład białkowy jaj kurzych – zmiany w zależności od dodatku łubinu i soi do pasz .....	49
<i>Marcin Dziedziński, Joanna Kobus-Cisowska, Barbara Stachowiak</i>	
Ocena wpływu dodatku pędów sosny ( <i>Pinus sylvestris</i> L.) na właściwości fizykochemiczne i zawartość wybranych witamin w piwie typu pszenicznego .....	61
<i>Marcelina Karbowski, Mateusz Pawlak, Dorota Zielińska</i>	
Wpływ inaktywacji cieplnej komórek bakterii kwasu mlekowego na ich zdolność do adhezji do śluzu jelitowego .....	68

<i>Aleksandra Purkiewicz, Renata Pietrzak-Fiećko</i>	
Zmiany w sposobie postrzegania karmienia naturalnego na przestrzeni lat .....	85
<i>Iwona Wasielewska, Agnieszka Piekara, Małgorzata Krzywonos</i>	
Jakość i bezpieczeństwo produktów regionalnych w opinii konsumentów .....	95
<i>Agnieszka Piekara, Julia Grzelak</i>	
Produkty z pogranicza w obrocie aptecznym – perspektywa farmaceutów .....	111

## Słowo wstępne

Niniejsza monografia stanowi zwieńczenie XXVI Sesji Sekcji Młodej Kadry Naukowej Polskiego Towarzystwa Technologów Żywności pt. „Żywność dzisiaj – lokalna czy globalna, tradycyjna czy innowacyjna?”, która odbyła się w dniach 19–20 maja 2022 r. na Uniwersytecie Przyrodniczym w Poznaniu. Wydarzenie to ma charakter cykliczny i od kilku już dekad skupia młodych naukowców z kraju i zagranicy, umożliwiając im dzielenie się doświadczeniami, wiedzą, a co istotne, także wynikami najnowszych badań prowadzonych w dziedzinie nauk o żywności i żywieniu.

Odzwierciedleniem aktualnych trendów – z perspektywy teoretycznej, metodycznej i praktycznej – są podejmowane zagadnienia badawcze zaprezentowane w kolejnych rozdziałach. Należą do nich: tematyka związana z analizą aktywności antyoksydacyjnej surowców, fortyfikacja żywności, modulowanie składu białka czy finalnie – projektowanie nowych produktów spożywczych. Omawiane są w nich również aspekty dotyczące modyfikacji bakterii probiotycznych zwiększającej ich adhezję do nabłonka jelitowego, jakości i bezpieczeństwa produktów regionalnych, jak również tzw. produktów typu borderline, powszechnie występujących w obrocie farmaceutycznym.

Jako redaktorki niniejszej monografii kierujemy słowa podziękowania do wszystkich Autorów za przyjęcie zaproszenia do jej współtworzenia oraz za podzielenie się z czytelnikami wynikami prowadzonych badań, a Recenzentce dziękujemy za cenne uwagi i wsparcie naukowe.

dr inż. Monika Beszterda-Buszczak  
dr inż. Monika Przeor





# Analiza aktywności antyoksydacyjnej miodów z dodatkiem mandarynek i goździków

Ewelina Sidor<sup>1,2✉</sup>, Alicja Strzałka<sup>1</sup>, Małgorzata Dżugan<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Zakład Chemii i Toksykologii Żywności, Instytut Technologii Żywności i Żywienia, Kolegium Nauk Przyrodniczych, Uniwersytet Rzeszowski, Rzeszów

<sup>2</sup>Szkoła Doktorska, Uniwersytet Rzeszowski, Rzeszów

✉ewelina.sidor.dokt@gmail.com

**Streszczenie.** Miody wzbogacone w dodatki ziołowe, owocowe, a także inne produkty pszczele są dostępne na rynku i cieszą się dużym zainteresowaniem konsumentów. Celem pracy była ocena wpływu dodatku owoców mandarynki i goździków na aktywność antyoksydacyjną, profil polifenolowy miodu oraz stabilność miodów wzbogaconych podczas przechowywania. Miody wzbogacone otrzymano w wyniku wprowadzenia do miodu rzepakowego dodatku liofilizowanych owoców mandarynki: skórka (2%), skórka + goździki (2% + 0,5%), miąższ (2%), miąższ + goździki (2% + 0,5%), skórka + miąższ + goździki (1% + 1% + 0,5%) w procesie kremowania. Istotnie wyższą aktywność antyoksydacyjną i zawartość polifenoli stwierdzono dla ekstraktów skórki niż miąższu owoców ( $p < 0,05$ ), aktywność ekstraktu goździków była kilkakrotnie wyższa. Analiza porównawcza miodów wzbogaconych w porównaniu do miodu kontrolnego wykazała największe wzbogacenie w związki polifenolowe (o 277,8%) dla miodu z dodatkiem skórki, miąższu i goździków (1:1:0,5). Dla miodów z dodatkami przechowywanych przez 3 miesiące obserwowano większą aktywność antyoksydacyjną, od 9,87% do 167,29% w metodzie FRAP, a także od 13,15% do 46,5% w metodzie DPPH. Analiza chromatograficzna HPTLC wykazała bogaty profil polifenolowy miodów wzbogaconych, w którym zidentyfikowano związki pochodzące z owoców (luteolinę, naryngeninę, rutynę), jak i goździków (eugenol). Wykazano, że miód z dodatkiem owoców mandarynki i goździków ma ciekawe korzystne walory organoleptyczne, większą wartość prozdrowotną oraz dobrą stabilność w 3-miesięcznym okresie przechowywania.

**Słowa kluczowe:** miody wzbogacone, mandarynki, goździki, aktywność antyoksydacyjna, profil polifenolowy

## Wstęp

Wiedza o żywności i jej prozdrowotnych właściwościach jest obecnie ważnym czynnikiem przy wyborze diety przez konsumentów. Żywność przestała być traktowana jako czynnik niezbędny do podtrzymania życia i zaspokojenia

głodu, dużo ważniejsze jest jej oddziaływanie na stan zdrowia (Grochowicz i in., 2019). Rośnie zapotrzebowanie na bezpieczną, łatwo dostępną żywność, która umożliwia sprawne przygotowanie posiłku o każdej porze i w różnych sytuacjach, dostosowanych do coraz większej aktywności człowieka. Stale poszukiwane są nowe produkty, bogate w związki o działaniu prozdrowotnym, których regularne spożywanie poprawi samopoczucie i zdrowie konsumenta (Kozłowska-Strawska i in., 2017; Mironium, 2018).

W ostatnich latach obserwuje się wzrost spożycia miodu w Polsce. W 2010 roku roczne spożycie na statystycznego Polaka wyniosło średnio 0,48 kg tego produktu, a w 2018 0,6 kg/os. (Trzybiński, 2018). Może to wynikać między innymi z faktu, że coraz więcej osób jest świadomych ścisłego powiązania między sposobem odżywiania i zdrowiem, w tym szczególnej roli składników bioaktywnych zawartych w naturalnej, nieprzetworzonej żywności. Produkty pszczele – takie jak miód, mleczko pszczele, pierzga, propolis czy pyłek pszczeli – należą właśnie do grupy produktów szczególnie cenionych przez współczesnych konsumentów, również jako źródło składników prozdrowotnych. Dobroczynne działanie składników bioaktywnych zawartych w produktach pszczelich było znane i wykorzystywane od najdawniejszych czasów, a ich potencjał prozdrowotny potwierdziły liczne badania (Dżugan i in., 2018; Tomczyk i in., 2020; Miłek i in., 2021).

Miody z dodatkami owocowymi, ziołowymi lub innymi produktami pszczelimi cieszą się coraz większą popularnością, a ich asortyment w ofercie rynkowej systematycznie się powiększa. Wzbogacenie miodu w te dodatki kształtuje nowe, interesujące walory smakowo-zapachowe oraz zwiększa zawartość składników bioaktywnych (Dżugan i in., 2017). Najbardziej korzystne jest wprowadzanie dodatków roślinnych w procesie kremowania, dzięki czemu konsument uzyskuje innowacyjny, niskoprzetworzony produkt o zwiększonej aktywności biologicznej. Co więcej, składniki zawarte w owocach czy ziołach mogą wchodzić w synergistyczne interakcje ze składnikami miodu, co korzystnie wpływa na właściwości miodów wzbogaconych. Choć takie miody są dostępne na rynku, to niewiele jest publikacji naukowych na temat ich wartości biologicznej (Sowa i in., 2019; Tomczyk i in., 2020; Miłek i in., 2021).

Celem pracy była ocena zmian aktywności antyoksydacyjnej oraz profilu polifenolowego miodów wzbogaconych liofilizowanymi owocami mandarynki i pączkami goździków podczas przechowywania w porównaniu do miodu kontrolnego.

## Materialy i metody

Do produkcji miodów kremowanych wzbogaconych dodatkami owocowymi i ziołowymi wykorzystano miód rzepakowy, zakupiony w postaci skryształizowanej w pasiece zlokalizowanej na terenie województwa podkarpackiego, w sezonie pasiecznym 2021. Przed rozpoczęciem produkcji kremowanych miodów wzbogaconych krupiec poddano procesowi upłynnienia w cieplarni laboratoryjnej w temp. 40°C przez 24 h. Tak upłynniony miód wykorzystano do analiz.

Mandarynki i goździki zakupiono w jednym z lokalnych supermarketów. Z owoców oddzielono miąższ i skórkę, które rozdrobniono i zamrożono w -65°C. Po 48 h próbki poddano procesowi liofilizacji przez 72 h (Alpha 1-2, LD plus, Martin Christ Gefriertrocknungsanlagen GmbH, Osterode, Niemcy).

Do wytwarzania miodów z dodatkami wykorzystano procedurę określoną w pracy Tomczyk i in. (2020). Aby rozpocząć proces kremowania, upłynniony miód zaszczerpiono krupcem w proporcji 99:1. Przygotowane próbki przechowywano w lodówce przez 24 godziny. Próbki mieszano 4 razy dziennie przez około 3 min. Po 24 h do miodów kremowanych wprowadzono liofilizowane dodatki w formie sproszkowanej, uzyskując sześć miodów wzbogaconych: 1) skórka (2%), 2) skórka (2%) + goździki (0,5%), 3) miąższ (2%), 4) miąższ (2%) + goździki (0,5%), 5) skórka (1%) + miąższ (1%) + goździki (0,5%). Przygotowane próbki miodów wzbogaconych przez pierwsze 7 dni przechowywano w lodówce (temp. 4°C), dwa razy dziennie mieszając je, aby utrzymać homogenną strukturę w całej objętości słoika. Od 7. dnia próbki przechowywano w temperaturze pokojowej bez dostępu światła przez 3 miesiące. Miód rzepakowy kremowany bez dodatków wykorzystano jako kontrolę. Bezpośrednio przed analizą miody dokładnie mieszano.

Aktywność antyoksydacyjną owoców i goździków analizowano, przygotowując ekstrakty w 50% etanolu (1 g/10 ml) na drodze ekstrakcji wspomaganą ultradźwiękami (20 min, 40 kHz), natomiast dla miodu i miodów wzbogaconych zastosowano ekstrakcję wodną (1 g miodu/10 ml) w temp. pokojowej, bez wspomaganie ultradźwiękami. Wszystkie przygotowane próbki przesączono przez sączek bibułowy, a przesącze wykorzystano do dalszych analiz. Próbki rozcieńczano wodą destylowaną (5 razy w przypadku ekstraktów owoców i miodów, 30 razy w przypadku ekstraktu z goździków).

**Oznaczenie aktywności antyoksydacyjnej metodą DPPH.** Na płytkę odpipetowano 20 µl odpowiedniego ekstraktu, 180 µl (wcześniej przygotowanego i rozcieńczonego) odczynnika DPPH (1,1-difenylo-2-pikrylohydrazyl). Próby

inkubowano przez 30 min bez dostępu światła. Po tym czasie zmierzono absorbancję przy długości fali 517 nm względem próby kontrolnej, stosując czytnik płytek EPOCH 2 (Biotek, Winooski, VT, USA). Próbę właściwą wykonano w trzech powtórzeniach (Dżugan i in., 2018).

Wynik obliczono jako % inhibicji wolnych rodników, korzystając z zależności:

$$AA\% = \left[ \frac{Aa - Ao}{Ao} \right] \cdot 100\%$$

gdzie:  $Aa$  – absorbancja badanej próbki,  $Ao$  – absorbancja próby kontrolnej.

Wyniki wyrażono w równoważnikach Troloxu (TE) ( $\mu\text{mol TE}/100$  g próbki) na podstawie krzywej wzorcowej ( $y = 15,553x$ ,  $r^2 = 0,9970$ ), przygotowanej dla roztworu Troloxu w zakresie stężeń 25–300 nmol/ml.

**Analiza zdolności redukującej metodą FRAP.** Odpipetowano 20  $\mu\text{l}$  odpowiedniej próbki, dodano 180  $\mu\text{l}$  wcześniej przygotowanego odczynnika FRAP (kompleks żelazowo-2,4,6-tripirydylo-s-triazyny). Przygotowane próbki umieszczono w suchej łaźni o temperaturze 37°C na 10 min. Po upływie wyznaczonego czasu mierzono absorbancję przy długości fali 593 nm wobec próby kontrolnej. Całkowitą zdolność redukcji jonów żelaza wyrażono w równoważnikach Troloxu (TE) ( $\mu\text{mol TE}/100$  g próbki), z wykorzystaniem równania krzywej wzorcowej sporządzonej dla serii rozcieńczeń roztworu wzorcowego Troloxu w zakresie stężeń 25–300 nmol/ml ( $y = 0,152x$ ,  $r^2 = 0,9998$ ). Oznaczenie wykonano w trzech powtórzeniach (Dżugan i in., 2018).

**Oznaczenie całkowitej zawartości związków fenolowych metodą Folina-Ciocalteu'a (F-C).** Na płytkę mikrotitracyjną odpipetowano 20  $\mu\text{l}$  odpowiedniego ekstraktu, 100  $\mu\text{l}$  odczynnika Folina (10-krotnie rozcieńczony wodą), 80  $\mu\text{l}$  7,5%  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ . Próbki inkubowano bez dostępu światła, w temperaturze pokojowej przez 60 min. Absorbancję mierzono przy długości fali 760 nm względem próby kontrolnej (EPOCH 2). Zawartość związków fenolowych (w przeliczeniu na kwas galusowy mg GAE/100 g) obliczono z równania krzywej kalibracyjnej ( $y = 0,336x$ , gdzie:  $y$  – absorbancja,  $x$  – stężenie ( $\mu\text{g}$  kwasu galusowego/próbkę)). Krzywą przygotowano dla roztworu wzorcowego kwasu galusowego o stężeniu 1  $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ , w zakresie stężeń 0–150  $\mu\text{g}/0,2$  ml,  $r^2 = 0,9914$ ).

**Analiza profilu polifenolowego metodą wysokosprawnej chromatografii cienkowarstwowej HPTLC.** Profil polifenolowy analizowano, wykorzystując metodę HPTLC. Na płytkę SilicaGel 60 F<sub>254</sub> nałożono po 5 µl odpowiednio przygotowanej próbki oraz 2 µl substancji wzorcowych (eugenol, rutyna, naryngenina, luteolina) o stężeniu 250 µg/ml. Wszystkie próbki nakładano z prędkością 100 nL/s (Linomat 5 CAMAG, Muttenz, Szwajcaria). Otrzymany chromatogram zobrazowano, wykorzystując TLC Visualizer (CAMAG, Muttenz, Szwajcaria) przy długości fali 366 nm. Płytkę spryskano p-anizaldehydem przy użyciu automatycznego derywatyzatora TLC (CAMAG, Derivatizer, Muttenz, Szwajcaria). Chromatogramy analizowano, wykorzystując oprogramowanie dla HPTLC (Vision CATS, CAMAG, Muttenz, Szwajcaria) (Sidor i in., 2021).

**Analiza statystyczna.** Wszystkie obliczenia wykonano w trzech powtórzeniach. Przeprowadzono dwuczynnikową analizę wariancji testem HSD Tukeya ( $p < 0,05$ ) w celu określenia istotnych zmian aktywności przeciwutleniającej i całkowitej zawartości związków polifenolowych miodów wzbogaconych w zależności od wprowadzonego dodatku oraz czasu przechowywania. Testem t-Studenta sprawdzono, czy różnice między próbą kontrolną a innymi średnimi wykazują różnice istotne statystycznie. Obliczono współczynniki korelacji ( $r$  Pearsona) dla wyników otrzymanych różnymi metodami. Do obliczeń wykorzystano program Statistica 13.3 (StatSoft, Tulsa, OK, USA).

## Wyniki i dyskusja

Analiza aktywności antyoksydacyjnej z wykorzystaniem rodnika DPPH liofilizowanej skórki i miąższu owoców mandarynki oraz pączków goździków wykazała, że goździki mają istotnie wyższy potencjał antyoksydacyjny w porównaniu z analizowanymi częściami mandarynki (tab. 1). Ponadto liofilizowana skórka mandarynki charakteryzowała się 3-krotnie wyższą aktywnością mierzoną metodą DPPH w porównaniu do miąższu. Podobną zależność wykazano, analizując zdolność redukcji jonów żelaza metodą FRAP. Liofilizowany miąższ mandarynki wykazywał 3-krotnie mniejszą aktywność niż skórka, jednak największą wartość badanego parametru stwierdzono dla pączków goździków. Wśród przebadanych dodatków najwyższą zawartością związków fenolowych (w mg GAE/100 g) charakteryzowały się goździki, a liofilizowana skórka zawierała 2,5-krotnie więcej związków polifenolowych

w porównaniu do mięszu. Podobne wyniki przedstawiła Kościuk i in. (2015). Autorzy wykazali, że mandarynka zawiera 5703,0 mg GAE/100 g związków polifenolowych analizowanych metodą z wykorzystaniem odczynnika Folina-Ciocalteu.

**Tabela 1.** Aktywność antyoksydacyjna oraz całkowita zawartość związków polifenolowych ekstraktów owoców mandarynki (skórka i mięsz) i goździków

**Table 1.** Antioxidant activity and total content of polyphenolic compounds in mandarin fruit extracts (peel and flesh) and cloves

	DPPH [mmol TE/100 g]	FRAP [mmol TE/100 g]	TPC [mg GAE/100 g]
Skórka	0,10 ±0,004 <sup>b</sup>	0,55 ±0,02 <sup>b</sup>	172,58 ±4,20 <sup>b</sup>
Mięsz	0,03 ±8,18 <sup>a</sup>	0,17 ±5,66 <sup>a</sup>	61,65 ±0,96 <sup>a</sup>
Pączki goździków	5,45 ±0,21 <sup>c</sup>	15,20 ±0,707 <sup>c</sup>	2062,00 ±30,92 <sup>c</sup>

Średnie oznaczone różnymi literami różnią się istotnie statystycznie ( $p < 0,05$ ).  
Means marked with different letters differ statistically significantly ( $p < 0.05$ ).

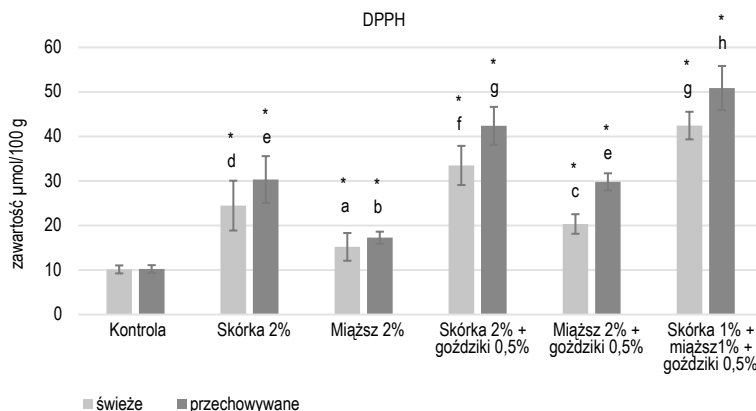
Właściwości antyoksydacyjne dodatków wprowadzonych do miodu wpłynęły na wzmocnienie zdolności przeciwrodnikowej mierzonej metodą DPPH miodów w każdym przygotowanym wariantcie ( $p < 0.05$ ) (ryc. 1). Zdolność przeciwrodnikowa miodu rzepakowego wynosiła 10  $\mu\text{mol TE}/100\text{ g}$  produktu. 2% dodatek skórki mandarynki spowodował 2,5-krotny wzrost aktywności, słabszy wzrost obserwowano dla miodu z dodatkiem 2% mięszu. Największe wzbogacenie w związki o działaniu przeciwrodnikowym stwierdzono dla miodu z 2,5% dodatkiem skórki, mięszu i goździków (1 : 1 : 0,5).

Po trzech miesiącach przechowywania miodów wzbogaconych zaobserwowano dodatkowy wzrost właściwości przeciwrodnikowych (13–46%) w porównaniu do miodów badanych po 2 tygodniach przechowywania. Może to wskazywać na proces migracji składników z dodatków do miodu podczas przechowywania. Obserwowane różnice były statystycznie istotne ( $p < 0,05$ ).

Nieliczne prace dotyczące wzbogacenia miodu owocami, ziołami lub innymi produktami pszczelimi wskazują, że taka operacja powoduje istotny wzrost aktywności antyoksydacyjnej, zależny od wprowadzonego dodatku. Tomczyk i in. (2020) wzbogacali miód rzepakowy 4% dodatkiem wybranych odmian morwy białej (liście, owoce). Autorzy wykazali wzrost aktywności antyoksydacyjnej wyrażonej jako procent inhibicji z 2,9% do 32,1%

w przypadku dodatku liści morwy. Cytowane dane są porównywalne do uzyskanych wyników, gdzie największy wzrost aktywności antyoksydacyjnej stwierdzono dla miodu z dodatkiem miąższu i skórki mandarynek oraz goździków (1 : 1 : 0,5) z 10,86% do 52% (ryc. 1). Podobne wyniki uzyskali Miłek i in. (2021) dla miodu wzbogaconego owocami aronii, którzy uzyskali wzrost aktywności przeciwutleniającej miodu rzepakowego z 17,38% do 49,46% dla miodu wzbogaconego 1% dodatkiem owoców aronii oraz 86,67% dla 4% dodatku aronii. Z kolei Habryka i in. (2021) analizowali połączenie miodu z innymi produktami pszczelimi. Wykazali, że miód wzbogacony 25% dodatkiem pyłku pszczelego wykazywał 8,5-krotnie wyższą aktywność mierzoną w metodzie DPPH w porównaniu z miodem kontrolnym. Ponadto 5% dodatek pyłku pszczelego przyczynił się do 2,5-krotnego wzrostu aktywności. Podobny efekt dało wzbogacenie miodu propolisem w różnych stężeniach (0,1–1%).

Podczas analizy zdolności redukowania jonów żelaza (metodą FRAP) zaobserwowano podobną tendencję jak w przypadku analizy zdolności



**Ryc. 1.** Zmiany aktywności antyoksydacyjnej mierzonej metodą DPPH miodów wzbogaconych podczas przechowywania przez okres 3 miesięcy, w porównaniu do miodu kontrolnego

\*Istotne różnice w porównaniu z miodem kontrolnym ( $p < 0,05$ ).

Średnie oznaczone różnymi literami (dla miodów wzbogaconych) różnią się istotnie statystycznie ( $p < 0,05$ ).

**Fig. 1.** Changes in antioxidant activity measured by DPPH method of enriched honey and during 3-month storage compared to control honey

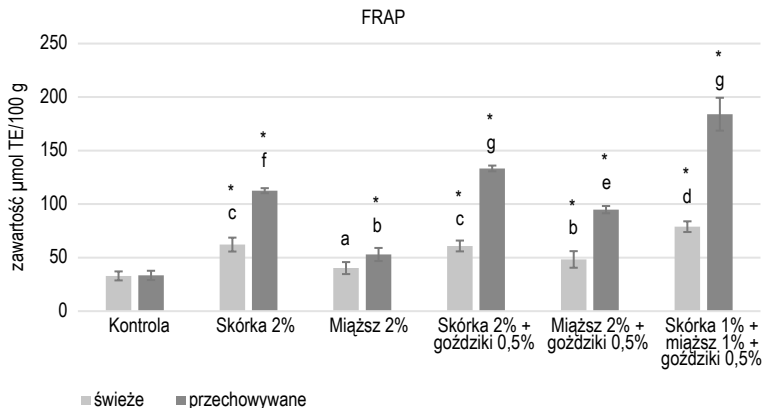
\*Significant differences compared to control honey ( $p < 0.05$ ).

Means marked with different letters (for enriched honeys) differ statistically significantly ( $p < 0.05$ ).



przeciwrodnikowej sprawdzanej metodą DPPH (ryc. 2). Skórka mandarynki – będąca bogatszym źródłem antyoksydantów niż miąższ – po zmieszaniu z miodem najintensywniej zwiększa zdolność redukującą miodu. Przechowywanie badanych produktów przez 3 miesiące spowodowało istotny statystycznie wzrost aktywności antyoksydacyjnej FRAP od 9,87% do 167,29%. Największy wzrost w porównaniu do miodu kontrolnego wykazano dla miodu z 2,5% dodatkiem miąższu + skórki i goździków (1:1:0,5). Co więcej, stwierdzono istotny statystycznie wzrost potencjału redukującego FRAP, niezależnie od rodzaju wprowadzonego dodatku w porównaniu do miodu kontrolnego. Tomczyk i in. (2020), analizując miody z morwą, wykazali blisko 8-krotny wzrost zdolności redukującej FRAP dla otrzymanych produktów. Podobną zależność zaobserwowali Miłek i in. (2021), wzbogacając miód aronią w stężeniu 1% (wzrost potencjału redukującego z 48,52 do 152,0  $\mu\text{mol TE}/100\text{ g}$ ) i 4% (do 747,53  $\mu\text{mol TE}/100\text{ g}$ ).

Wprowadzenie do miodu rzepakowego dodatku owoców mandarynki i goździków zwiększyło istotnie statystycznie ( $p < 0,05$ ) całkowitą zawartość



**Ryc. 2.** Zmiany potencjału redukującego FRAP miodów wzbogaconych podczas przechowywania przez okres 3 miesięcy w porównaniu do miodu kontrolnego

\*Istotne różnice w porównaniu z miodem kontrolnym ( $p < 0,05$ ).

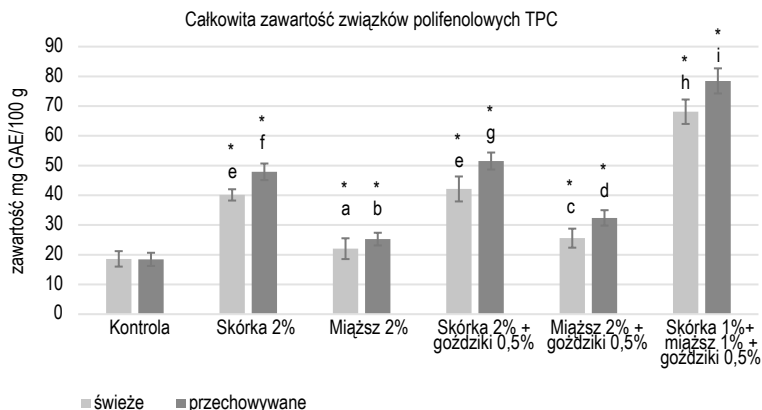
Średnie oznaczone różnymi literami (dla miodów wzbogaconych) różnią się istotnie ( $p < 0,05$ ).

**Fig. 2.** Changes in the FRAP reducing potential of enriched honeys during 3-month storage compared to control honey.

\*Significant differences compared to control honey ( $p < 0.05$ ).

Means marked with different letters (for enriched honeys) differ significantly ( $p < 0.05$ ).

związków polifenolowych (ryc. 3). Największy wzrost odnotowano w przypadku 2,5% dodatku skórki, miąższu i goździków (1 : 1 : 0,5). Przechowywanie miodów przez 3 miesiące spowodowało dalszy wzrost całkowitej zawartości związków polifenolowych (od 13% do 28%) w porównaniu do miodów „świeżych”. Dodatek 2% miąższu mandarynki w najmniejszym stopniu wzbogacił miód w analizowane związki, zarówno w miodzie świeżym, jak i przechowywanym. Całkowita zawartość związków polifenolowych była silnie skorelowana z właściwościami przeciwutleniającymi oznaczonymi metodami DPPH i FRAP (odpowiednio  $r = 0,950$  i  $0,866$ ). Podobne obserwacje prezentowano w innej pracy dotyczącej miodów wzbogaconych. Tomczyk i in. (2020) analizowali zmiany całkowitej zawartości polifenoli dla miodów z dodatkiem liści i owoców morwy. Wykazali, że wprowadzenie liści w postaci 4% dodatku do miodu dwukrotnie zwiększa zawartość związków polifenolowych. Z kolei Habryka i in. (2021) wzbogacili miód wielokwiatowy w 5% dodatek pyłku pszczelego i zaobserwowali wzrost całkowitej zawartości związków polifenolowych



**Ryc. 3.** Zmiany całkowitej zawartości związków polifenolowych TPC miodów wzbogaconych podczas przechowywania przez okres 3 miesięcy w porównaniu do miodu kontrolnego

\*Istotne różnice w porównaniu z miodem kontrolnym ( $p < 0,05$ ).

Średnie oznaczone różnymi literami (dla miodów wzbogaconych) różnią się istotnie ( $p < 0,05$ ).

**Fig. 3.** Changes in the total content of TPC polyphenols in enriched honeys during 3 months of storage compared to control honey

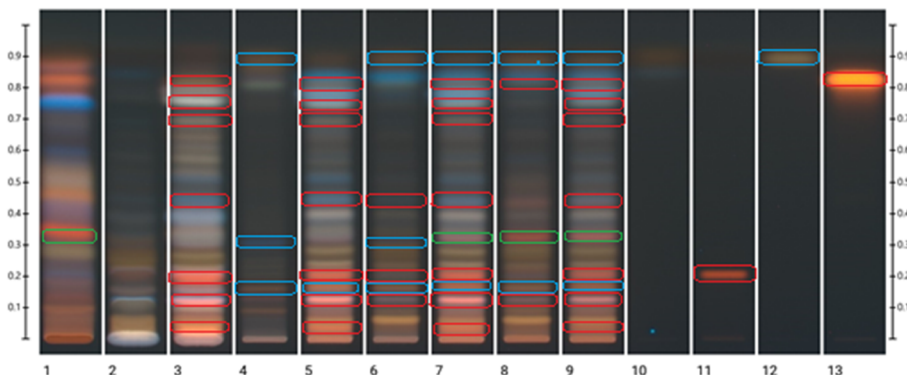
\*Significant differences compared to control honey ( $p < 0.05$ ).

Means marked with different letters (for enriched honeys) differ significantly ( $p < 0.05$ ).

z 30,75 mg GAE/100 g do 63,33 mg GAE/100 g. Podobne wyniki uzyskały Majewska i Trzanek (2009). Wzbogacając miód wielokwiatowy pyłkiem pszczelim (10%) lub propolisem (0,5%), otrzymały produkt o 4-krotnie wyższej zawartości związków polifenolowych. Natomiast 6,5-krotny wzrost wykazały, wzbogacając miód wielokwiatowy mleczeniem pszczelim, propolisem i pyłkiem pszczelim (łącznie 11%).

Analiza profilu polifenolowego metodą wysokosprawnej chromatografii cienkowarstwowej HPTLC ekstraktów mandarynek, goździków oraz miodów wzbogaconych wykazała zróżnicowany profil polifenolowy analizowanych próbek (ryc. 4). Miód rzepakowy (kontrola, pasmo 4) wykazywał najmniej zróżnicowany profil polifenolowy. Uzyskane wyniki znajdują potwierdzenie w pracy Stanek i Jasickiej-Misiak (2018). Badając profil fenolowy miodów nektarowych, autorki wykazały obecność dominujących pasm koloru żółtego, jasnoniebieskiego, niebieskiego i czarnego, wśród których zidentyfikowały kwas p-kumarowy, kwas chlorogenowy i mirycetynę. Otrzymany w badaniach własnych profil polifenolowy (ryc. 4) dla ekstraktu z goździków wykazywał liczne prążki o zróżnicowanej barwie, głównie pomarańczowe (o  $R_f = 0,1; 0,18; 0,34; 0,47; 0,53; 0,83; 0,87$ ) i niebieskie (o  $R_f = 0,21; 0,42; 0,60; 0,76$ ); brązowy (o  $R_f = 0,89$ ) odpowiada eugenolowi, charakterystycznemu flawonoidowi o silnych właściwościach przeciwutleniających (Nurđin, 2020; Danthu i in., 2021). Z przedstawionego chromatogramu wynika, że w skórce mandarynek znajduje się znacznie więcej związków polifenolowych, o czym świadczą liczne prążki o barwie pomarańczowej ( $R_f = 0,03; 0,12; 0,21$ ), niebieskiej i białej ( $R_f = 0,39; 0,45; 0,51$ ) oraz brązowej ( $R_f = 0,57; 0,61; 0,64; 0,70; 0,76; 0,80; 0,83$ ) niż w miąższu (porównanie pasma 5 i 6). Konsekwencją tej różnicy w zawartości polifenoli jest znacznie uboższy profil polifenolowy miodu z dodatkiem miąższu (pasmo 8) niż skórki (pasmo 7). W obu przypadkach ilość (i intensywność) prążków dla miodów wzbogaconych jest znacznie większa w porównaniu do miodu rzepakowego, o czym świadczą liczne pasma pomarańczowe o  $R_f$  od 0,01 do 0,25 oraz niebieskie i brązowe o  $R_f$  od 0,3 do 0,9. Do związków przechodzących ze skórki do miodu należy zaliczyć rutynę ( $R_f = 0,19$ ), luteolinę ( $R_f = 0,83$ ) odznaczające się pomarańczową barwą, ale także pochodzący z goździków eugenol o brązowej barwie, który nakłada się częściowo z naryngeniną ( $R_f = 0,90$ ) pochodzącą z miodu rzepakowego.

Przeprowadzone badania wykazały, że wysokosprawna chromatografia cienkowarstwowa (HPTLC) jest szybką i precyzyjną metodą do tworzenia profili chemicznych, a tym samym do dokładnego określania pochodzenia botanicznego



**Ryc. 4.** Wizualizacja chromatogramu otrzymanego metodą HPTLC przy 366 nm dla ekstraktów dodatków: goździki (1); mandarynka: miąższ (2); skórka (3); miodu rzepakowego (4) i miodów wzbogaconych dodatkami: skórka (5); miąższ (6); skórka + goździki (7); miąższ + goździki (8); skórka+ miąższ + goździki (9), a także wzorce: eugenol (10); rutyna (11); naryngenina (12); luteolina (13)

Na chromatogramie kolorem czerwonym zaznaczono najważniejsze prążki przechodzące ze skórki mandarynki do miodów wzbogaconych, niebieskim – prążki pochodzące z miodu, a kolorem zielonym wybrane pasmo pochodzące z goździków, występujące w miodach wzbogaconych.

**Fig. 4.** Visualization of the chromatogram obtained by HPTLC at 366 nm for the extracts of the additives: cloves (1); mandarin flesh (2); peel (3); rapeseed honey (4) and honey enriched with additives: pee (5); pulp (6); peel + cloves (7); pulp + cloves (8); peel+ flesh + cloves (9), as well as bands: eugenol (10); rutin (11); naringenin (12); luteolin (13)

On chromatogram selected compounds migrated from mandarin to honey were marked on red, compounds from rapeseed honey on blue, and selected compounds from cloves on green.

miodów. Dodatek do miodu owoców, ziół lub innych produktów pszczelich zmienia profil polifenolowy gotowego produktu, wzbogacając go w dodatkowe „prążki”, co pozwala na szybką weryfikację efektów wzbogacenia miodu.

## Wnioski

Zastosowanie liofilizowanych owoców mandarynki i goździków jako dodatków do miodu rzepakowego istotnie zwiększa właściwości przeciwutleniające uzyskanego produktu w porównaniu do próby kontrolnej.

Podczas przechowywania przez okres 3 miesięcy obserwowano dalszy korzystny wzrost właściwości antyoksydacyjnych miodów wzbogaconych, związany z migracją składników bioaktywnych z dodatków do miodu.

Wprowadzenie dodatków do miodów pozwala uzyskać produkty o zwiększonych walorach prozdrowotnych i nowych cechach organoleptycznych.

**Źródło finansowania:** badania zostały sfinansowane w ramach Potencjału Badawczego Zakładu Chemii i Toksykologii Żywności PB/ZCHTZ/2022 Uniwersytetu Rzeszowskiego.

**Konflikt interesów:** brak

## Literatura

- Danthu, P., Simanjuntak, R., Fawbush, F., Leong, J., Tsy, J.M., Abdillahi, M.M., Jahiel, M., Penot, E. (2020). The clove tree and its products (clove bud, clove oil, eugenol): prosperous today but what of tomorrow's restrictions? *Fruits*, 75(5), 224–242. <https://doi.org/10.17660/th2020/75.5.5>
- Dżugan, M., Sowa, P., Kwaśniewska, M., Wesołowska, M., Czernicka, M. (2017). Physicochemical parameters and antioxidant activity of bee honey enriched with herbs. *Plant Foods for Human Nutrition*, 72(1), 74–81. <https://doi.org/10.1007/s11130-016-0593-y>
- Dżugan, M., Tomczyk, M., Sowa, P., Grabek-Lejko, D. (2018). Antioxidant activity as biomarker of honey variety. *Molecules*, 23(8), 2069. <https://doi.org/10.3390/molecules23082069>
- Habryka, C., Socha, R., Juszczak, L. (2021). Effect of bee pollen addition on the polyphenol content, antioxidant activity, and quality parameters of honey. *Antioxidants*, 10(5), 810. <https://doi.org/10.3390/antiox10050810>
- Kościuk, M., Tarasiuk, I., Czurak, A., Szydlik, J., Pełowski, J., Torbicz, G., Naliwajko, S.K., Markiewicz-Żukowska, R., Bartosiuk, E., Borawska, M.H. (2015). Aktywność antyoksydacyjna wybranych owoców egzotycznych. *Bromatologia i Chemia Toksykologiczna*, XLVIII, 3, 407–411.
- Kozłowska-Strawska, J., Badora, A., Chwil, S. (2017). Żywność funkcjonalna i tradycyjna – właściwości i wpływ na postawy konsumentów. *Problemy Higieny i Epidemiologii*, 98(3), 212–216.
- Majewska, E., Trzaneek, J. (2009). Antioxidant activity of multi-flower honey and other bee products. *Bromatologia i Chemia Toksykologiczna*, 4, 1089–1094.
- Miłek, M., Grabek-Lejko, D., Sidor, E., Mołoń, M., Dżugan, M. (2021). The enrichment of honey with *Aronia melanocarpa* fruits enhances its in vitro and in vivo antioxidant potential and intensifies antibacterial and antiviral properties. *Food & Function*, 19. <https://doi.org/10.1039/D1FO02248B>
- Mironiuk, K. (2018). Functional Food – a challenge for the consumer, opportunity for producers. *Annals of the Polish Association of Agricultural and Agribusiness Economists*, XX(5), 112–118, <https://doi.org/10.5604/01.3001.0012.6694>
- Nowak, A., Zielonka, J., Turek, M., Klimowicz, A. (2014). Wpływ przeciwutleniaczy zawartych w owocach na proces fotostarzenia się skóry. *Postępy Fitoterapii*, 2, 94–99.
- Nurdin, A. (2020). Eugenol production from clove oil in pilot plant scale for small and medium enterprises (SME). In: Proceedings of the 2nd International Conference of Essential Oils – ICEO, 101–105. <https://doi.org/10.5220/0009957501010105>

- Sidor, E., Miłek, M., Tomczyk, M., Dżugan, M. (2021). Antioxidant activity of frozen and freeze-dried drone brood homogenate regarding the stage of larval development. *Antioxidants*, 10, 639.
- Socha, R., Habryka, C., Juszcak, L. (2018). Effect of bee bread additive on content of phenolic compounds and antioxidant activity of honey. *Food. Science. Technology. Quality*, 25, 108–119.
- Sowa, P., Tarapatsky, M., Puchalski, Cz., Jarecki, W., Dżugan, M. (2019). A novel honey-based product enriched with coumarin from *Melilotus* flowers. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 13(3), 1748–1754. <https://doi.org/10.1007/s11694-019-00092-w>.
- Stanek, N., Jasicka-Misiak, I. (2018). HPTLC phenolic profiles as useful tools for the authentication of honey. *Food Analytical Methods*, 11, 2979–2989.
- Tomczyk, M., Miłek, M., Sidor, E., Kapusta, I., Litwińczuk, W., Puchalski, C., Dżugan M. (2020). The effect of adding the leaves and fruits of *Morus alba* to rape honey on its antioxidant properties, polyphenolic profile, and amylase activity. *Molecules*, 25(1), 84. <https://doi.org/10.3390/molecules25010084>
- Trzybiński, S. (2018). Wszystko o miodzie i jego pozyskiwaniu. Bee & Honey Sp. z o.o., Klecza Dolna.

### Analysis of the antioxidant activity of honeys enriched with mandarins and cloves

**Abstract.** Honey enriched with herbal, fruit and even other bee products are offered on the market and are very popular among consumers. The aim of the study was to assess the effect of the addition of mandarin and cloves on the antioxidant activity and polyphenol profile of honey, and to analyze the stability of enriched honey during storage. Enriched honeys were obtained as a result of adding freeze-dried mandarins fruits to rapeseed honey: peel (2%), peel + cloves (2% + 0.5%), pulp (2%), pulp + cloves (2% + 0.5%) peel + pulp + cloves (1% + 1% + 0.5%) in the creaming process. Significantly higher antioxidant activity and polyphenol content were found for the peel extracts than for the fruit flesh ( $p < 0.05$ ), whereas for cloves extract a several times higher activity was observed. Comparative analysis of enriched and control honeys showed the greatest enrichment in honey polyphenolic compounds (to 277,8%) in combination with the peel, pulp and cloves (1:1:0,5). Storing honey for 3 months increased the FRAP antioxidant activity of honeys with additives from 9,87% to 167,29%. HPTLC analysis showed a rich polyphenol profile of enriched honeys where compounds migrated from fruit (luteolin, naringenin, rutin) and clove (eugenol) were identified. It has been shown that honey with the addition of mandarin fruits and cloves exhibits specific beneficial organoleptic properties, enhanced antioxidant activity and good storage stability for a period of 3 months.

**Keywords:** enriched honeys, mandarins, cloves, antioxidant activity, polyphenol profile

# Projekt produktu pochodzenia roślinnego wzbogaconego burakiem fortyfikowanym jodem

Agata Zaremba<sup>✉</sup>, Natalia Cichoń<sup>1</sup>, Krystyna Szymandera-Buszka<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Katedra Technologii Gastronomicznej i Żywności Funkcjonalnej, Wydział Nauk o Żywności i Żywieniu, Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, Poznań

<sup>✉</sup>agata.zaremba@up.poznan.pl

**Streszczenie.** Celem pracy była analiza możliwości zastosowania buraka w roli nośnika soli jodu oraz zaprojektowanie produktu zbożowego z dodatkiem fortyfikowanego jodem suszu buraka. Efektywność wykorzystania buraka (*Beta vulgaris* L.) jako matrycy dla jodu badano przy użyciu dwóch form tego składnika: KI oraz KIO<sub>3</sub>. Zaprojektowano także bułki typu ciabatta z dodatkiem wzbogaconego jodem suszu buraka, wprowadzonego na poziomie 5%. Analizowano zawartość jodu w produkcie przed wypiečeniami i po, a także podczas przechowywania w zmiennych warunkach temperaturowych (4°C, 21°C i -21°C). Do przewidywania dynamiki zmian zawartości jodu we wzbogaconym produkcie podczas zmiennych warunków przechowywania wykorzystano wartość okresu półtrwania jodu ( $T_{1/2}$ ). Zaprojektowane produkty poddano także ocenie semikonsumenckiej w grupie osób deklarujących stosowanie diety mieszanej i wegańskiej. Wyniki badań semikonsumenckich potwierdziły wysoką pożądalność w odniesieniu do barwy, smaku i zapachu zaprojektowanych bułek typu ciabatta z dodatkiem fortyfikowanego jodem suszu buraka zarówno wśród osób deklarujących dietę wegańską, jak i mieszaną. Nie stwierdzono wpływu rodzaju naniesionej soli (KI lub KIO<sub>3</sub>) na poziom pożądalności. Stwierdzono natomiast większą stabilność jodu wprowadzonego jako jodan potasu (KIO<sub>3</sub>). Uzyskane wyniki potwierdziły straty jodu podczas wypieku pieczywa typu ciabatta sięgające 40%. Analiza stabilności jodu podczas przechowywania potwierdziła najmniejsze tempo powstawania strat jodu podczas przechowywania zamrażalniczego pieczywa (10–13%), a największe podczas przechowywania w temp. 21°C. Badania potwierdziły możliwość wprowadzenia wzbogaconego w jod suszu buraka do pieczywa typu ciabatta jako składnika zwiększającego efektywność profilaktyki jodowej.

**Słowa kluczowe:** jod, warzywa suszone, burak, wzbogacanie żywności, pieczywo

## Wstęp

Jod jest pierwiastkiem niezbędnym do produkcji hormonów tarczycy – trójjodotyroniny (T3) i tyroksyny (T4). Hormony te pełnią wiele ważnych funkcji, m.in. przyczyniają się do prawidłowego funkcjonowania i rozwoju mózgu oraz

układu nerwowego, biorą udział w przemianie składników odżywczych, a także termoregulacji (Farebrother i Rohner, 2018; Pilarczyk i in., 2019).

Niedostateczna podaż jodu skutkuje zespołem zaburzeń spowodowanych jego niedoborem (ang. Iodine deficiency disorders – IDD). Wśród objawów tego zespołu wymieniane są: wole endemiczne, niedoczynność tarczycy, rak pęcherzykowaty tarczycy, obniżenie funkcji umysłowych, a u dzieci kretynizm, zaburzenia rozwoju umysłowego czy wady wrodzone (Ahad i Ganie, 2010; Zimmermann i in., 2008).

W żywności wysoką zawartość jodu odnotowuje się przede wszystkim w roślinach morskich, np. w algach, a także rybach słonowodnych (Hays i in., 2018). Źródłem tego pierwiastka mogą być również produkty o niższej zawartości, ale częstszym spożyciu. W diecie Polaków są to mleko i produkty mleczne oraz jaja (Brzóska i in., 2015).

Jod nie jest niezbędny dla życia roślin, dlatego też jego zawartość w warzywach i owocach jest niska i zależy od zdolności absorpcyjnych rośliny, zawartości selenu w podłożu oraz stosowania związków azotowych (Skoczylas i in., 2018; Krzepińko i in., 2015). Niektóre rośliny zawierają związki goitrogenne, które ograniczają wchłanianie jodu z pożywienia (Kurosad i in., 2005). Do takich roślin należą warzywa krzyżowe, np. brukselka, brokuł, kalafior, kapusta. Ponadto niektóre z warzyw (między innymi soja) zawierają tioglikozydy, którym przy długotrwałym spożywaniu przypisuje się działanie wolotwórcze. Substancje te blokują wiązanie jodu i konwersję tyrozyny do tyroksyny, która jest niezbędna do produkcji hormonów tarczycy (Bouga i in., 2018; Krela-Kaźmierczak i in., 2021).

Biorąc pod uwagę niewielkie spożycie źródeł odzwierzcących jodu (lub brak) oraz duże spożycie roślin zawierających goitrogeny i tioglikozydy, uważa się wegan i wegetarian za grupy szczególnie narażone na niedobory jodu (Brytek-Matera, 2020; Fallon i Dillon, 2020).

Głównym rezerwuarem jodu jest woda morska i oceaniczna, co skutkuje nierównomiernym rozmieszczeniem w środowisku. Ludność wielu państw znajduje się w strefach naturalnie niedoborowych w jod, co zwiększa ryzyko epidemii IDD (Zimmermann i Trumbo, 2013). WHO i UNICEF uznały niedobór tego pierwiastka za poważny problem światowego zdrowia publicznego i w związku z tym w 1993 r. wydały zalecenia, które wdrożone przez władze poszczególnych państw przyniosły widoczną poprawę wysycenia populacji jodem (WHO, 2014). Jodowanie soli kuchennej jest najbardziej rozpowszechnioną, a przy tym skuteczną i niedrogą praktyką, zapewniającą stabilną podaż jodu w obrębie dużych populacji poszczególnych krajów (Olson i in., 2021).



Biorąc jednak pod uwagę zalecenie WHO z 2006 roku, aby ograniczyć spożycie soli do 5 g dziennie u osób dorosłych, podaż jodu z tego źródła może ulec obniżeniu (Szybiński, 2009). Konieczne jest zatem znalezienie nowych nośników dla soli jodu.

Burak (*Beta vulgaris* L.) jest warzywem korzeniowym szeroko stosowanym w kuchni wielu krajów, ale również cenionym surowcem przemysłu spożywczego. Właściwości prozdrowotne buraka wynikają z zawartości składników mineralnych, kwasu askorbinowego, karotenoidów, fenenoli i betalain. Betalainy wykazują m.in. działanie przeciwutleniające, przeciwzapalne, przeciwnowotworowe, obniżające ciśnienie krwi i stężenie lipidów, a także przeciwcukrzycowe i przeciwdziałające otyłości (Chhikara i in., 2020). Dzięki swoim właściwościom zdrowotnym, a także szerokiej dostępności burak wydaje się dobrą alternatywą dla soli kuchennej jako nośnik jodu (Lucky i in., 2020). Dlatego celem pracy była analiza możliwości zastosowania buraka w roli nośnika soli jodu oraz zaprojektowanie produktu zbożowego z dodatkiem fortyfikowanego jodem suszu buraka.

## Materialy i metody

Jako matrycę dla jodu wybrano korzeń buraka (*Beta vulgaris* L.). Impregnowano go roztworami jodku potasu (KI) oraz jodanu potasu (KIO<sub>3</sub>). Analizując dane literaturowe dotyczące częstości spożycia różnych grup produktów, wybrano rodzaj produktu finalnego, a następnie zaprojektowano bułki typu ciabatta z dodatkiem wzbogaconego jodem suszu buraka (Stoś i in., 2021). Buraki zakupiono w handlu detalicznym. W pierwszym etapie poddano je obróbce wstępnej, na którą składało się mycie, obieranie, płukanie. Warzywa pokrojono, a następnie gotowano na parze w piecu konwekcyjno-parowym w temperaturze 100°C przez 25 minut. Po obróbce cieplnej warzywa poddano homogenizacji. Przygotowano wodny roztwór KI oraz KIO<sub>3</sub> o stężeniu odpowiednio 0,5 mg/1000 ml oraz 0,64 mg/1000 ml. Odpowiednio przygotowane roztwory dodano do zhomogenizowanych warzyw, uwzględniając uwodnienie 1:2 (masa warzyw:masa roztworu).

Następnie wszystkie próby schładzano przez 30 minut w temperaturze 4°C, zamrażano i poddano liofilizacji. Po tym procesie następowała powtórna homogenizacja w celu uzyskania sypkiego proszku.

Z dodatkiem podanych jodowanych preparatów przygotowano bułki typu ciabatta w 2 wariantach – z wykorzystaniem preparatów buraka jodowanych

jodkiem potasu (KI) oraz jodanem potasu ( $KIO_3$ ). Do przygotowania ciasta wykorzystano: 150 g mąki pszennej, 120 g wody, 2,5 g drożdży instant, 1 g soli niejodowanej oraz 14,4 g wzbogaconego jodem suszu buraka (5% w stosunku do masy). Następnie pozostawiono je do wyrośnięcia na 1 godzinę w temperaturze pokojowej, formowano ciabatty i pieczono w piecu konwekcyjno-parowym w temperaturze  $220^{\circ}C$  przez 20 minut.

Po przygotowaniu prototypu wykonano pomiar zawartości jodu w surowym cieście i w bułkach bezpośrednio po wypieczeniu oraz po przechowywaniu, w temperaturze  $21^{\circ}C$  oraz  $4^{\circ}C$  przez 2, 3, 4 i 5 dni, a także w warunkach zamrażalniczych ( $-21^{\circ}C$ ) po 10, 20, 30, 40, 60, 80 i 100 dniach. Zawartość jodu w badanych nośnikach oznaczono metodą kolorymetryczną, którą opisali Kühne i in. (1993) oraz Szymandera-Buszka i in. (2021). Analizy wykonano w dwóch niezależnych seriach, dla każdej próby w serii wykonano po 3 powtórzenia.

Przeprowadzono również semikonsumencką ocenę organoleptyczną wypieczonych bułek wzbogaconych jodanem potasu ( $KIO_3$ ) i jodkiem potasu (KI). Badanie przeprowadzono metodą skalowania przy wykorzystaniu dziesięciopunktowej skali liniowej niestrukturyzowanej.

W badaniu wzięło udział 136 osób. Wiek ankietowanych był zróżnicowany (od 20 do 57 lat). Kobiety stanowiły 54%. 91 osób deklarowało dietę mieszaną (67%).

Uzyskane wyniki badań poddano jednoczynnikowej analizie wariancji. Wyniki analizowano statystycznie za pomocą oprogramowania Excel 2016 oraz STATISTICATM PL 13.3 (StatSoft, Tulusa, OK, USA). W celu określenia istotności różnic między próbkami zawierającymi różne formy jodu (KI i  $KIO_3$ ) użyto testu Tukeya ( $p \leq 0,05$ ). W celu określenia dynamiki zmian zawartości jodu podczas przechowywania wyliczono również czas połowicznego rozpadu jodu, czyli czas, w którym początkowa zawartość jodu zmniejszyła się o połowę (Szymandera-Buszka i in., 2021).

## Wyniki

Na podstawie uzyskanych wyników badań stwierdzono, że średnie straty jodu po upieczeniu bułek typu ciabatta w porównaniu do zawartości w cieście przed wypiekiem wynosiły 38,94% dla jodanu potasu ( $KIO_3$ ) oraz 40,32% dla jodku potasu (KI).

W przyjętym projekcie badań analizowano stabilność zawartego jodu podczas zmiennych warunków przechowywania upieczonego pieczywa. Zawartość jodu (tab. 1) we wszystkich próbkach – niezależnie od formy jodu i warunków

**Tabela 1.** Czas połowicznego rozpadu [dni] jodu zawartego w bułkach typu ciabatta wzbogaconych suszem buraka fortyfikowanego jodem (KI, KIO<sub>3</sub>) podczas zmiennych warunków przechowywania (temp. 21, 4, –21°C)

**Table 1.** Half-life [days] of iodine contained in bread – ciabatta rolls enriched with dried beetroot fortified with iodine (KI, KIO<sub>3</sub>) during variable storage conditions (temperature 21, 4, –21°C)

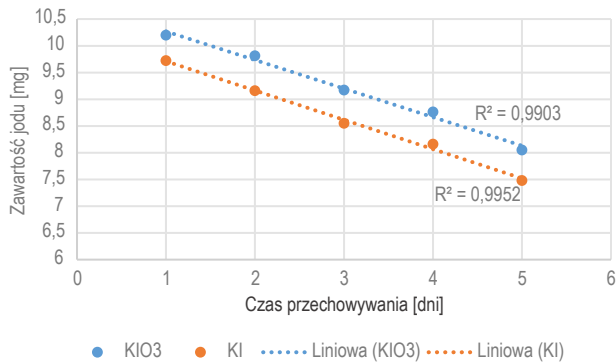
Forma jodu/ temp. przechowywania	KI		KIO <sub>3</sub>	
	T <sub>1/2</sub>	R	T <sub>1/2</sub>	R
21°C	11,1	0,995	10,6	0,990
4°C	13,1	0,948	15,0	0,975
–21°C	379,5	0,900	466,7	0,921

przechowywania pieczywa wzbogaconego w fortyfikowanego jodem buraka – zmieniała się liniowo (KIO<sub>3</sub>: R<sup>2</sup> = 0,990 – 0,921, KI: R<sup>2</sup> = 0,995–0,900). Analiza czasu połowicznego rozpadu jodu (tab. 1) wykazała, że najwolniejsze tempo przemian jodu podczas przechowywania pieczywa typu ciabatta wzbogaconego jodowanym suszem buraka zapewniają warunki zamrażalnicze (–21°C). Natomiast najszybsze tempo przemian jodu i największe jego straty potwierdzono w próbkach przechowywanych w temperaturze 21°C.

Na podstawie uzyskanych wyników (ryc. 1) przedstawiono charakterystykę zmian zawartości jodu (KIO<sub>3</sub> i KI) we wzbogacanych w jodowany susz buraka bułkach typu ciabatta podczas przechowywania w temperaturze 21°C. Na podstawie uzyskanych wyników stwierdzono, że bez względu na zastosowaną formę jodu zawartość pierwiastka zmniejszała się z każdym dniem przechowywania. W 5 dniu przechowywania pieczywa wzbogaconego suszem buraka fortyfikowanego jodem stwierdzono spadek zawartości jodu naniesionego w postaci KIO<sub>3</sub> na poziomie 21,07%, a w formie KI na poziomie 23,05%.

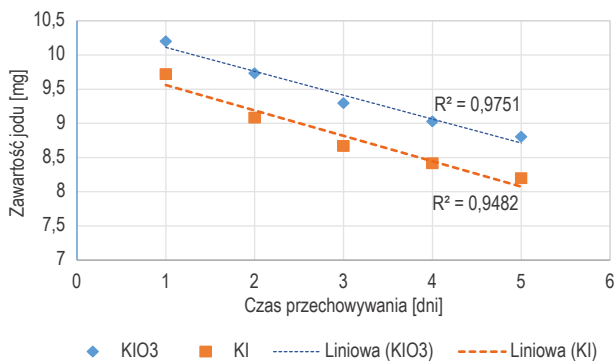
Uzyskane wyniki potwierdziły większą stabilność jodu wprowadzonego w formie jodanu potasu.

Na podstawie uzyskanych wyników (ryc. 2) przedstawiono charakterystykę zmian zawartości jodu (KIO<sub>3</sub> i KI) we wzbogacanych w jodowany susz buraka bułkach typu ciabatta podczas przechowywania w temperaturze 4°C. Potwierdzono istotny wpływ wydłużenia czasu przechowywania na stabilność zawartego jodu. Potwierdzono, że niezależnie od zastosowanej formy jodu zawartość tego pierwiastka zmniejszała się z każdym dniem przechowywania.



**Ryc. 1.** Charakterystyka zmian zawartości jodu w bułkach typu ciabatta wzbogaconych suszem buraka fortyfikowanego jodem (KI, KIO<sub>3</sub>) podczas przechowywania w temperaturze 21°C

**Fig. 1.** Changes of iodine content in ciabatta-type bun, enriched in powdered beetroot fortified with iodine (KI, KIO<sub>3</sub>), during storage at temperature 21°C



**Ryc. 2.** Charakterystyka zmian zawartości jodu w bułkach typu ciabatta wzbogaconych suszem buraka fortyfikowanego jodem (KI, KIO<sub>3</sub>) podczas przechowywania w temperaturze 4°C

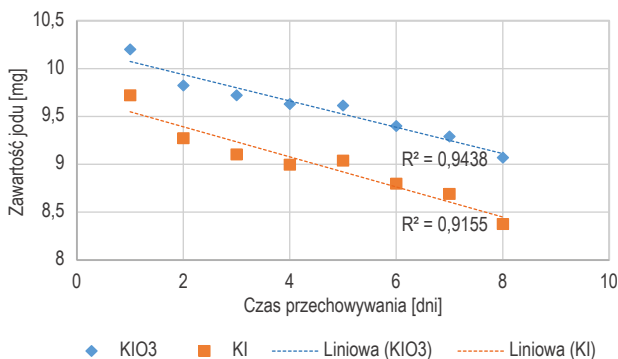
**Fig. 2.** Changes of iodine content in ciabatta-type bun, enriched in powdered beetroot fortified with iodine (KI, KIO<sub>3</sub>), during storage at temperature 4°C

W przypadku jodanu potasu odnotowano 13,67% spadek zawartości jodu w 5 dniu przechowywania, natomiast jodku potasu o 15,67%. Uzyskane wyniki zawartości jodu potwierdziły liniową zależność zmiany zawartości jodu w czasie przechowywania jodowanych preparatów buraka (KIO<sub>3</sub>; R<sup>2</sup> = 0,975,

KI:  $R^2 = 0,948$ ). Potwierdzono większą stabilność jodu wprowadzonego w formie jodanu potasu.

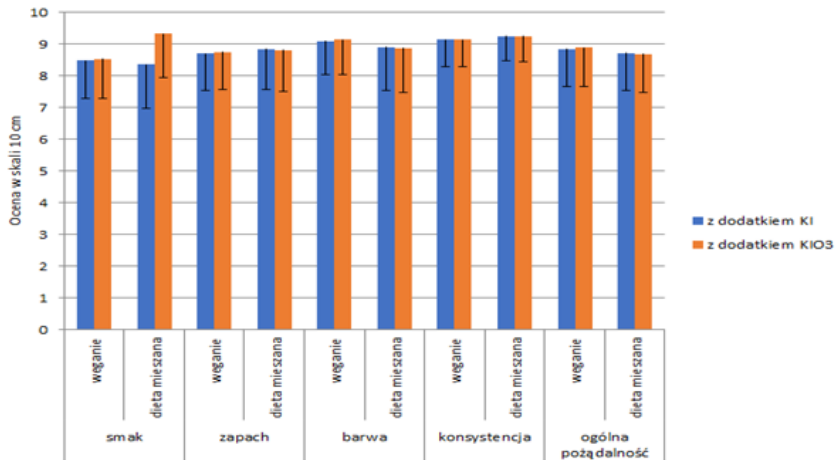
Analiza zawartości jodu w próbkach pieczywa typu bułki ciabatta wzbogaconych suszem buraka fortyfikowanym jodem przechowywanych w temperaturze  $-21^\circ\text{C}$  potwierdziła wcześniejsze tendencje (ryc. 3). Potwierdzono istotny wpływ wydłużenia czasu przechowywania na stabilność zawartego jodu. Potwierdzono także większą stabilność jodu wprowadzonego w formie jodanu potasu. Analiza zawartości jodu wykazała, że niezależnie od zastosowanej formy jodu zawartość pierwiastka zmniejszała się z każdym dniem przechowywania. W przypadku jodanu potasu odnotowano 11,06% spadek zawartości jodu w 100 dniu przechowywania, natomiast jodku potasu o 13,83%. Zawartość jodu w obu jodowanych preparatach buraka zmieniała się liniowo ( $\text{KIO}_3$ :  $R^2 = 0,943$ , KI:  $R^2 = 0,915$ ). Analiza zawartości jodu podczas przechowywania w tej temperaturze wykazała, że są to warunki w najmniejszym stopniu wpływające na powstałe straty. Straty jodu wprowadzonego w formie jodanu potasu były mniejsze o 5% w odniesieniu do temperatury  $4^\circ\text{C}$  i 11% w porównaniu do  $21^\circ\text{C}$ .

Pożądalność sensoryczna jest ważnym czynnikiem decydującym o zakupie i wielkości spożycia produktów spożywczych (Kowalska i in., 2012). W związku z tym zdecydowano się na przeprowadzenie oceny semikonsumenckiej uzyskanych produktów. Analiza średnich z ocen poszczególnych wyróżników sensorycznych pieczywa typu ciabatta z dodatkiem wzbogacanego fortyfikowanym



**Ryc. 3.** Charakterystyka zmian zawartości jodu – w bułkach typu ciabatta wzbogaconych suszem buraka fortyfikowanego jodem (KI,  $\text{KIO}_3$ ) podczas przechowywania w temperaturze  $-21^\circ\text{C}$

**Fig. 3.** Changes of iodine content in Ciabatta-type bun, enriched in powdered beetroot fortified with iodine (KI,  $\text{KIO}_3$ ), during storage at temperature  $-21^\circ\text{C}$



**Ryc. 4.** Charakterystyka pożądalności sensorycznej wobec pieczywa – bułki typu ciabatta wzbogaconej suszem buraka fortyfikowanym jodem (KI, KIO<sub>3</sub>) wśród wegan i osób stosujących diety mieszaną

**Fig. 4.** Sensory attractiveness of Ciabatta-type bun enriched in iodine-fortified (KI, KIO<sub>3</sub>) beetroot among vegans and people on mixed diet

jodem suszu buraka (ryc. 4) wykazała, że ogólnie konsumenci wysoko ocenili badane produkty (średnia 8,79). Na uwagę zasługuje fakt wysokiej oceny pożądalności (powyżej 8,0 pkt.) barwy zaprojektowanych produktów, pomimo odmiennej od tego typu produktu, bo jasnoczerwonej. Wykazano (tab. 2),

**Tabela 2.** Istotność statystyczna predyktorów modeli kowariancji dla oceny pożądalności sensorycznej wobec pieczywa – bułki typu ciabatta wzbogaconej suszem buraka fortyfikowanym jodem (KI, KIO<sub>3</sub>)

**Table 2.** Statistical significance of predictors of covariance models for the assessment of sensory desire for bread – ciabatta rolls enriched with dried beetroot fortified with iodine (KI, KIO<sub>3</sub>)

Predyktory	SS	df	SEM	F	p	Moc testu $\alpha = 0,05$
Dieta	0,002	1	0,002	0,01	0,916	0,005
Forma jodu	0,273	1	0,273	2,15	0,596	0,284

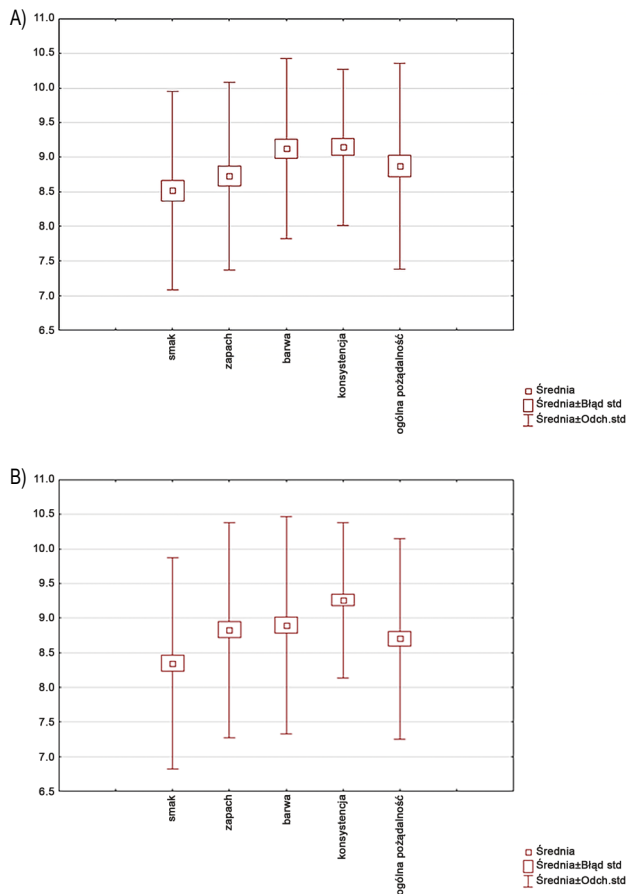
SS – odchylenie standardowe (standard deviation)

df – stopnie swobody (degrees of freedom)

SEM – standardowy błąd pomiaru (standard error of measurement)

F – test F (F-test)

p – wartość p (p-value).

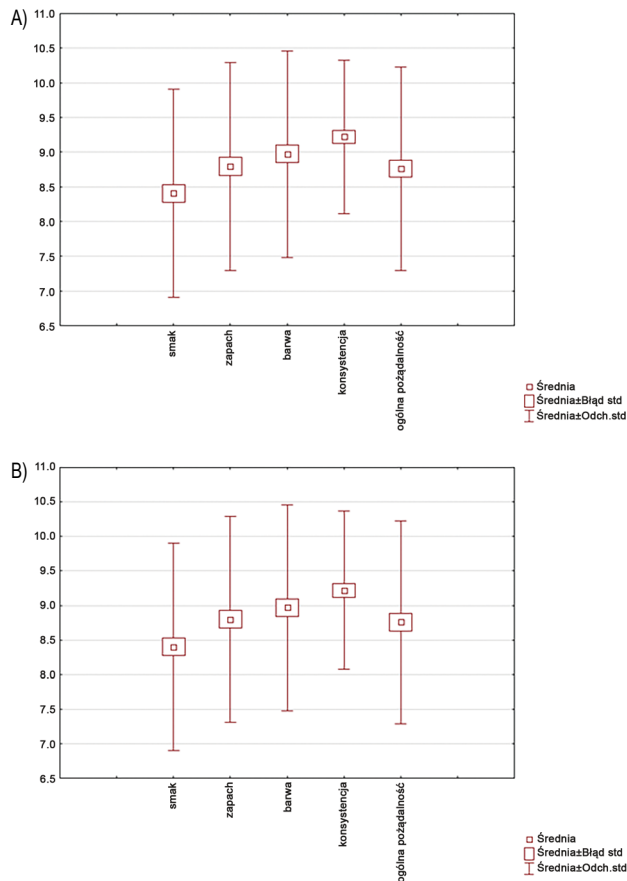


**Ryc. 5.** Wyróżniki sensoryczne pieczywa – bułki typu ciabatta wzbogaconej suszem buraka fortyfikowanym jodem (KI, KIO<sub>3</sub>) wśród wegan (A) i osób stosujących diety mieszaną (B)

**Fig. 5.** Sensory attractiveness descriptors of ciabatta-type bun enriched in iodine-fortified (KI, KIO<sub>3</sub>) beetroot among vegans (A) and people on mixed diet (B)

że rodzaj diety ankietowanych osób (wegańska lub mieszaną) i forma jodu nie miały wpływu na pożądalność sensoryczną wśród badanych osób (tab. 4, ryc. 5). Potwierdzono, że zarówno wśród wegan, jak i osób stosujących diety mieszaną pożądalność ogólna jest na poziomie powyżej 8,5 pkt. w przyjętej skali 10 cm. Nie stwierdzono także wpływu wprowadzonej formy jodu (KI, KIO<sub>3</sub>) na różnice w odbiorze deklarowanej pożądalności sensorycznej wobec

oceniałego pieczywa – bułek typu ciabatta (ryc. 4 i 6). Potwierdzono wysoką pożądalność sensoryczną zarówno wobec produktów z dodatkiem jodu w formie jodku, jak i jodanu potasu (ryc. 6).



**Ryc. 6.** Charakterystyka zmienności ocen pożądalności sensorycznej wśród wegan i osób stosujących dietę mieszaną dla poszczególnych wyróżników sensorycznych pieczywa typu bułki ciabatta wzbogaconej suszem buraka fortyfikowanym jodem – jodkiem potasu (A) i jodanem potasu (B)

**Fig. 6.** Variance of sensory attractiveness descriptors among vegans and people on mixed diet of ciabatta-type ban enriched in powdered beetroot fortified with potassium iodide (A) and potassium iodate (B)



Analiza potwierdziła, że oceny deklarowanej pożądalności sensorycznej konsumentów wobec ocenianych próbek odznaczały się małą zmiennością, co wskazuje na wysoki potencjał konsumpcyjny analizowanych produktów – bułek typu ciabatta z dodatkiem wzbogaconego w jod suszu buraka, niezależnie od zastosowanej form jodu (ryc. 5–8).

## Dyskusja

Dodatek preparatów warzywnych do pieczywa pozwala na zwiększenie spożycia warzyw w ciągu dnia. Mogą one wzbogacać pieczywo w cenne składniki mineralne i substancje odżywcze. Pieczywo jest zwyczajowym elementem diety, przez co dodatek preparatów jodowanych może istotnie zwiększyć także podaż jodu w diecie człowieka. Badania dotyczące zawartości jodu w pieczywie (Manzoor i in., 2018), do którego przygotowania stosuje się sól jodowaną, wykazują, że poziom jodu nie jest zbyt wysoki, lecz wyższy niż przy zastosowaniu soli niejodowanej. Wyższy poziom jodu zaobserwowano, gdy do pieczywa dodano roztwór jodku potasu, a w dodatku smak pieczywa uległ poprawie.

Wzbogacanie pieczywa w jod było już powszechnie stosowane w Niderlandach, gdzie obligatoryjne było jodowanie soli dodawanej do pieczywa. Działanie to przyniosło wymierne efekty w walce z niedoborem jodu wśród mieszkańców tego kraju (Verkaik-Kloosterman i in., 2017).

Wcześniejsze badania Szymandery-Buszki i in. (2021) potwierdzają możliwość nanoszenia innych składników odżywczych na warzywa. W cytowanym badaniu nośnikiem tiaminy były kalafior oraz dynia.

W innym badaniu wykorzystano błonnik pszenny oraz białko sojowe jako nośnik jodu (Szymandera-Buszka i in., 2021). Stabilność podczas przechowywania otrzymanego preparatu zależna była od warunków przechowywania, zastosowanej formy jodu (KI czy  $KIO_3$ ) oraz rodzaju nośnika. Jod naniesiony na badane preparaty wykazywał większą stabilność w porównaniu do soli kuchennej.

Straty jodu, które nastąpiły w trakcie wypieku bułek typu ciabatta, były duże, lecz jest to typowe dla badanego składnika mineralnego. Wisnu (2008) na podstawie badań nad stabilnością jodu zawartego w jodowanej jodanem potasu soli kuchennej, dodanego do zupy warzywnej i szpinakowej, stwierdził niższą zawartość jodu po obróbce termicznej – odpowiednio o 48,52% i 34,62%.

Istotne jest dostosowanie warunków przechowywania produktów w celu zminimalizowania strat jodu. Rodzaj zastosowanej formy chemicznej substancji

wzbogacającej ma również wpływ na wielkość strat podczas przechowywania. Potwierdza to badanie zespołu Wirakartakusumahi i Hariyadi (1998), gdzie zastosowano beta-karoten do fortyfikacji soku owocowego witaminą A. W ten sposób ograniczono straty tej witaminy podczas przechowywania w stosunku do zastosowania retinolu.

Z badań Ciecierskiej i in. (2018) wynika, że ankietowani cenią sobie smak i zapach pieczywa. Chętnie wybierają pieczywo z dodatkami, kierując się przy tym zdrowotnością i atrakcyjnością sensoryczną.

## **Wnioski**

Wyniki badań semikonsumenckich potwierdziły wysoką pożądalność sensoryczną w odniesieniu do barwy, smaku i zapachu zaprojektowanych bułek typu ciabatta, wzbogaconych suszem buraka fortyfikowanym jodem na poziomie 5%. Nie stwierdzono statystycznie istotnego wpływu zastosowanej formy jodu ( $KIO_3$  oraz KI) na analizowaną pożądalność sensoryczną. Uzyskane wyniki potwierdziły straty jodu podczas wypieku pieczywa sięgające 40%.

Potwierdzono większą stabilność jodu wprowadzonego jako jodan potasu ( $KIO_3$ ). Analiza zawartości jodu w pieczywie potwierdziła najmniejsze tempo zmian jodu, a więc i najmniejsze jego straty (10–13%) podczas przechowywania zamrażalniczego. W celu uzyskania maksymalnej stabilności jodu zalecanymi warunkami przechowywania produktu typu ciabatta wzbogaconego fortyfikowanymi jodem preparatami warzywnymi są warunki chłodnicze (temp. 4°C) i zamrażalnicze, natomiast zalecaną formą jodu jest wprowadzenie  $KIO_3$ .

Spożycie 100 g zaprojektowanego pieczywa pozwoliłoby na pokrycie około 6,5% dziennego zapotrzebowania na jod dla osoby dorosłej.

Badania potwierdzają możliwość wprowadzenia wzbogaconego w jod suszu buraka do pieczywa typu Ciabatta jako składnika zwiększającego efektywność profilaktyki jodowej, przy jednoczesnym założeniu strat tego składnika związanych z wypiekiem i przechowywaniem na poziomie 40–50%. W związku z tym zalecane jest uwzględnienie poziomu strat przy nanoszeniu jodu, przez wprowadzenie na surowiec docelowej ilości soli jodu zwiększonych o potencjalne straty.

**Źródło finansowania:** płatne z zadania badawczego: 506.751.03.00

**Konflikt interesów:** brak

## Literatura

- Ahad, F., Ganie, S.A. (2010). Iodine, iodine metabolism and iodine deficiency disorders revisited. *Indian Journal of Endocrinology and Metabolism*, 14(1), 13–17. Pobrano z: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21448409><http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=PMC3063534>
- Bouga, M., Lean, M.E.J., Combet, E. (2018). Contemporary challenges to iodine status and nutrition: The role of foods, dietary recommendations, fortification and supplementation. *Proceedings of the Nutrition Society*, 77(3), 302–313. <https://doi.org/10.1017/S0029665118000137>
- Brytek-Matera, A. (2020). Restrained eating and vegan, vegetarian and omnivore dietary intakes. *Nutrients*, 12(7), 1–16. <https://doi.org/10.3390/nu12072133>
- Brzóska, F., Szybiński, Z., Śliwiński, B. (2015). Jod w mleku spożywczym w Polsce oraz jego rola w profilaktyce zdrowotnej człowieka. *Wiadomości Zootechniczne*, 53(4), 41–49.
- Chhikara, N., Kushwaha, K., Sharma, P., Gat, Y., Panghal, A. (2019). Bioactive compounds of beetroot and utilization in food processing industry: A critical review. *Food Chemistry*, 272, 192–200. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.08.022>
- Ciecierska, M., Warszycka, A., Kowalska, J., Derewiaka, D., Drużyńska, B., Majewska, E., Wołosiak, R. (2018). Preferencje konsumenckie na rynku pieczywa. *Nauka Przyroda Technologie*, 12(1), 55–63. Pobrano z: <http://10.0.67.154/J.NPT.00230%0Ahttp://han.up.poznan.pl/han/ebsco/search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&db=a9h&AN=128868404&lang=pl&site=eds-live>
- Fallon, N., Dillon, S.A. (2020). Low intakes of iodine and selenium amongst vegan and vegetarian women highlight a potential nutritional vulnerability. *Frontiers in Nutrition*, 7(72). <https://doi.org/10.3389/fnut.2020.00072>
- Farebrother, J., Rohner, F. (2018). Thyroid function and growth: The mechanisms of iodine. In: *The Biology of the First 1000 Days* (pp. 105–119). <https://doi.org/10.1201/9781315152950-8>
- Hadipour, E., Taleghani, A., Tayarani-Najaran, N., Tayarani-Najaran, Z. (2020). Biological effects of red beetroot and betalains: A review. *Phytotherapy Research*, 34(8), 1847–1867. <https://doi.org/10.1002/ptr.6653>
- Hays, S.M., Poddalgoda, D., Macey, K., Aylward, L., Nong, A. (2018). Biomonitoring equivalents for interpretation of urinary iodine. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 94(January), 40–46. <https://doi.org/10.1016/j.yrtph.2018.01.017>
- Kowalska, H., Marzec, A., Mucha M. (2012). Ocena sensoryczna wybranych rodzajów pieczywa funkcjonalnego oraz preferencje pieczywa wśród konsumentów. *Zeszyty Problemowe Postępów Nauk Rolniczych*, 571, 67–78.
- Krela-Kaźmierczak, I., Czarnywojtek, A., Skoracka, K., Rychter, A.M., Ratajczak, A.E., Szymczak-Tomczak, A., Dobrowolska, A. (2021). Is there an ideal diet to protect against iodine deficiency? *Nutrients*, 13(2), 1–15. <https://doi.org/10.3390/nu13020513>

- Krzepiłko, A., Zych-Wężyk, I., Molas, J. (2015). Alternative ways of enriching the human diet with iodine. *Journal of Pre-Clinical and Clinical Research*, 9(2), 167–171. <https://doi.org/10.5604/18982395.1186500>
- Kühne, D., Wirth, F., Wagner, H. (1993). Jodbestimmung in jodierten Fleischerzeugnissen. *Fleischwirtschaft*, 73(2), 175–178.
- Kurosad, A., Nicpoń, J., Kubiak, K., Jankowski, M., Kungl, K. (2005). Występowanie, obieg i obszary niedoboru jodu oraz główne jego źródła w żywieniu człowieka i zwierząt. *Advances In Clinical and Experimental Medicine*, 14(5), 1019–1025.
- Lucky, A.R., Al-Mamun, A., Hosen, A., Toma, M.A., Mazumder, M.A.R. (2020). Nutritional and sensory quality assessment of plain cake enriched with beetroot powder. *Food Research*, 4(6), 2049–2053. [https://doi.org/10.26656/fr.2017.4\(6\).268](https://doi.org/10.26656/fr.2017.4(6).268)
- Manzoor, M.S., Pasha, I., Ahmad, S., Sharif, M.K., Chughtai, M.F.J. (2018). Fortification and stability of iodine in bread to mitigate iodine deficiency disorder. *Pakistan Journal of Scientific and Industrial Research Series B: Biological Sciences*, 61(3), 145–150. <https://doi.org/10.52763/pjsir.biol.sci.61.3.2018.145.150>
- Olson, R., Gavin-Smith, B., Ferraboschi, C., Kraemer, K. (2021). Food fortification: The advantages, disadvantages and lessons from sight and life programs. *Nutrients*, 13(4). <https://doi.org/10.3390/nu13041118>
- Pilarczyk, B., Tomza-Marciniak, A., Pilarczyk, R., Marciniak, A., Bąkowska, M., Udała, J. (2019). Iodine. In: E. Kalisińska (Ed.), *Mammals and birds as bioindicators of trace element contaminations in terrestrial environments* (pp. 163–180). [https://doi.org/10.1007/978-3-030-00121-6\\_5](https://doi.org/10.1007/978-3-030-00121-6_5)
- Skoczylas, Ł., Liszka-Skoczylas, M., Żmudziński, D., Rudnik, D. (2018). Biofortyfikacja roślin uprawnych jako metoda walki z deficytem składników mineralnych w diecie człowieka. In: J. Słupski, T. Tarko, I. Drożdż (red.), *Składniki bioaktywne surowców i produktów roślinnych* (pp. 58–67). Kraków: Oddział Małopolski Polskiego Towarzystwa Technologów Żywności.
- Stoś, K., Rychlik, E., Woźniak, A., Ołtarzewski, M. (2021). Krajowe badanie sposobu żywienia i stanu odżywienia populacji polskiej. Warszawa: Narodowy Instytut Zdrowia Publicznego PZH – Państwowy Instytut Badawczy.
- Szybiński, Z. (2009). Sytuacja profilaktyki jodowej w Polsce w świetle ostatnich rekomendacji WHO dotyczących ograniczenia spożycia soli. *Pediatric Endocrinology, Diabetology and Metabolism*, 15(2), 103–107. Pobrano z: <https://pesquisa.bvsalud.org/portal/resource/pt/mdl-19772817>
- Szymandera-Buszka, K., Piechocka, J., Zaremba, A., Przeor, M., Jędrusek-Golińska, A. (2021). Pumpkin, cauliflower and broccoli as new carriers of thiamine compounds for food fortification. *Foods*, 10(3). <https://doi.org/10.3390/foods10030578>
- Szymandera-Buszka, K., Waszkowiak, K., Kaczmarek, A., Zaremba, A. (2021). Wheat dietary fibre and soy protein as new carriers of iodine compounds for food fortification – The effect of storage conditions on the stability of potassium iodide and potassium iodate. *LWT – Food Science and Technology*, 137(October), 110424. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.110424>

- Verkaik-Kloosterman, J., Buurma-Rethans, E.J.M., Dekkers, A.L.M., Van Rossum, C.T.M. (2017). Decreased, but still sufficient, iodine intake of children and adults in the Netherlands. *British Journal of Nutrition*, 117(7), 1020–1031. <https://doi.org/10.1017/S0007114517000733>
- Wirakartakusumah, M.A., Hariyadi, P. (1998). Technical aspects of food fortification. *Food and Nutrition Bulletin*, 19(2), 101–108. <https://doi.org/10.1177/156482659801900203>
- Wisnu, C. (2008). Determination of iodine species content in iodized salt and foodstuff during cooking. *International Food Research Journal*, 15(3), 325–330.
- WHO (World Health Organization) (2014). Guideline: Fortification of food-grade salt with iodine for the prevention and control of iodine deficiency disorders. WHO Guideline, 1–54. Pobrano z: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25473709>
- Zimmermann, M.B., Jooste, P.L., Pandav, C.S. (2008). Iodine-deficiency disorders. *Lancet* (London, England), 372(9645), 1251–1262. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(08\)61005-3](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(08)61005-3)
- Zimmermann, M., Trumbo, P.R. (2013). Iodine. *Advances in Nutrition*, 4(2), 262–264. <https://doi.org/10.3945/an.113.003665>

## Designing a new plant product enriched in iodine with the additive of beetroot-fortified with iodine

**Abstract.** The aim of the study was to analyze the possibility of using beetroot as a carrier of iodine salt with the simultaneous design of a cereal product with its addition. The effectiveness of the use of beetroot (*Beta vulgaris* L.) as a matrix for iodine was tested with the use of two forms of this ingredient: KI and KIO<sub>3</sub>. Ciabatta buns with the addition of dried beetroot enriched with iodine were also designed. The iodine content in the product was analyzed before and after baking, as well as during storage in changing temperature conditions (4°C, 21°C and –21°C). The value of iodine half-life ( $T_{1/2}$ ) was used to predict the dynamics of changes in the iodine content in the enriched product during variable storage conditions. The designed products were also subjected to a semi-consumer assessment in a group of people declaring a mixed and vegan diet. The results of the semi-consumer research confirmed the high desirability for the colour, taste and smell of the designed Ciabatta buns with the addition of dried beetroot at the level of 5%. The obtained results confirmed the loss of iodine during baking of buns reaching 40%. Previous trends regarding the greater stability of iodine introduced as potassium iodate (KIO<sub>3</sub>) were confirmed. The lowest rate of iodine changes was confirmed during storage of frozen buns (10–13%). In order to obtain maximum iodine stability, the recommended storage conditions for the Ciabatta buns enriched with fortified iodine vegetable preparations are cooling (4°C) and freezing conditions. The research confirms the possibility of introducing iodine-enriched dried beetroot into Ciabatta buns as an ingredient increasing the effectiveness of iodine prophylaxis.

**Keywords:** iodine, dried vegetables, beetroot, food fortification, buns

# Wpływ działania promieniowania mikrofalowego na miążgę buraka ćwikłowego i na właściwości prozdrowotne soku

Natalia Szarek<sup>1, 2✉</sup>, Grażyna Jaworska<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Szkoła Doktorska Uniwersytetu Rzeszowskiego, Uniwersytet Rzeszowski, Rzeszów

<sup>2</sup>Zakład Ogólnej Technologii Żywności i Żywienia, Instytut Technologii Żywności i Żywienia, Kolegium Nauk Przyrodniczych, Uniwersytet Rzeszowski, Rzeszów

✉nataliasz@dokt.ur.edu.pl

**Streszczenie.** Przedmiotem badań było określenie wpływu działania promieniowania mikrofalowego na miążgę buraka ćwikłowego (*Beta vulgaris* L.) i na cechy prozdrowotne soku. Miążgę z nieobranego warzywa poddano działaniu mikrofal o mocy 180, 360, 600 oraz 800 W przez okres 10, 20, 30 oraz 60 sekund. Z miążgi po obróbce mikrofalowej oraz bez jej zastosowania (próbka kontrolna) wyłoczono sok i poddano analizom. Oznaczono wydajność tłoczenia, potencjał antyoksydacyjny metodami ABTS<sup>+</sup>, DPPH<sup>·</sup> i FRAP, zawartość polifenoli ogółem metodą F-C, a także betalain za pomocą UPLC-PDA-ESI-MS. W badanych próbach określono wydajność tłoczenia na poziomie 52–65%, aktywność przeciwutleniającą 100 ml soków w zakresie 1080–1428  $\mu\text{mol TE}$  w metodzie ABTS<sup>+</sup>, 180–20  $\mu\text{mol TE}$  w metodzie DPPH<sup>·</sup>, 480–591  $\mu\text{mol TE}$  w metodzie FRAP oraz zawartość polifenoli ogółem od 50 do 72 mg GAE, betaniny od 47,98 do 57,33 mg, wulgaksantyny od 30,92 do 37,68 mg i łącznej sumy betalain od 81,29 do 92,95 mg. Mikrofalowanie miążgi, w stosunku do próby kontrolnej, spowodowało istotne zwiększenie uzysku soku o 2–13%, wzrost zdolności redukcji żelaza o 6–23% oraz zawartości polifenoli ogółem o 12–45% i betaniny o 5–19%. Jednocześnie stwierdzono istotne zmniejszenie zdolności do zmiatania wolnych rodników w metodzie DPPH<sup>·</sup> o 1–15% oraz zawartości wulgaksantyny o 5–18%. Na podstawie uzyskanych wyników stwierdzono, że najkorzystniejsze z punktu żywieniowego było 20–30 s działania promieniowania mikrofalowego o mocy 180 W, natomiast analizując aspekt technologiczny, najefektowniejsze było poddanie miążgi mikrofalowaniu o mocy 600 W przez 30–60 s.

**Słowa kluczowe:** sok z buraka ćwikłowego, promieniowanie mikrofalowe, aktywność przeciwutleniająca, wydajność tłoczenia, betalainy

## Wstęp

Burak ćwikłowy (*Beta vulgaris* L.) jest surowcem roślinnym, stanowiącym bogate źródło naturalnych przeciwutleniaczy wykazujących wysoką aktywność biologiczną, głównie za sprawą obecności związków fenolowych, saponin, azotanów, karotenoidów, triterpenów oraz kwasu askorbinowego (Ravichandran i in., 2013; Dhiman i in., 2021). Jednak za jego prozdrowotny charakter odpowiadają głównie rozpuszczalne w wodzie alkaloidy – nazywane betalainami, dzielące się na dwie główne grupy związków (Khan, 2016). Addukty kwasu betalainowego i cyklo-DOPA są klasyfikowane jako betacyjaniny charakteryzujące się intensywnym czerwono-fioletowym kolorem, natomiast żółto-pomarańczowe betaksantyny powstają przez połączenie kwasu betalainowego z innymi aminokwasami i aminami. Buraki ćwikłowe dostępne w handlu zawierają w swoim składzie blisko 300–600 mg/kg s.m. betacyjanin, na które składa się głównie betanina oraz ok. 320–420 mg/kg s.m. betaksantyn, reprezentowanych przez wulgaksantynę I i II (Bastos i Gonçalves, 2017). Ze względu na niską stabilność pigmentów betalainowych w procesach przetwórczych poszukuje się nowych technologii bądź udoskonalona stosowane dotychczas metody produkcji w celu zachowania bądź zwiększenia cech prozdrowotnych uzyskanych produktów. Na trwałość betalain ma wpływ wiele czynników, m.in. obecność metali, dwutlenku siarki, światła, wysoka aktywność wody, działanie enzymatyczne, pH oraz podwyższona temperatura (Ngamwonglumlert i in., 2017). Jednakże najbardziej krytycznym czynnikiem odpowiedzialnym za stabilność tych barwników jest temperatura w połączeniu z wysoką aktywnością wody. Działanie wysokiej temperatury na sok z buraka powoduje zmiany w barwnikach, głównie z powodu autoutleniania, hydrolizy i dekarboksylacji betaniny (Martinez-Parra i Munoz, 2001). W wyniku tych przemian powstają dekarboksylowane i odwodornione produkty degradacji betaniny (Herbach i in., 2004a; 2004b). Aby uzyskać wysoką jakość produktów końcowych z buraka ćwikłowego, stosuje się fale ultradźwiękowe, promieniowanie jonizujące, ogrzewanie omowe, zamrażanie i następnie rozmrażanie surowca, wysokociśnieniową obróbkę dwutlenkiem węgla, impulsowe pole elektryczne oraz obróbkę mikrofalową (Dar i in., 2020; Dhiman i in., 2021). Wszystkie wymienione techniki mogą być stosowane do inaktywacji drobnoustrojów, enzymów (zwłaszcza peroksydazy i oksydazy polifenolowej), przygotowania proszku bez degradacji ekstraktu oraz do ekstrakcji bioaktywnych składników. W porównaniu z konwencjonalnymi technikami ekstrakcji pigmentów, te nowe

technologie są wysoce wydajne, szybkie, zużywają mniejsze ilości rozpuszczalników i wykorzystują mniej energii oraz skracają czas ekstrakcji. Technologie te zwiększają także przepuszczalność komórek buraka ćwikłowego, a tym samym wpływają na transfer masy oraz wydajność (Nirmal i in., 2021).

Stosowanie promieniowania mikrofalowego w technologii żywności jest coraz częściej wykorzystywane ze względu na szereg zalet, takich jak m.in. większa oszczędność energii dzięki ogrzewaniu objętościowemu, skrócenie czasu przetwarzania, zmniejszenie kosztów operacyjnych oraz zachowanie składników żywności. Mimo że ogrzewanie mikrofalowe w porównaniu do tradycyjnych odpowiedników jest korzystniejsze, główną wadą ograniczającą jego popularność jest nierównomierny rozkład temperatur w obrabianym produkcie (Chizoba Ekezie i in., 2017). Promieniowanie mikrofalowe to rodzaj promieniowania elektromagnetycznego z zakresu 300 MHz do 300 GHz. Promieniowaniu mikrofalowemu poddaje się materiały dielektryczne, takie jak żywność. Jest ono wytwarzane dzięki zdolności produktu do absorbowania energii mikrofalowej i przekształcania jej w ciepło. Główną przyczyną nagrzewania dielektrycznego jest obecność wody, ze względu na jej polarny charakter. Najczęściej wykorzystywane jest do blanszowania, gotowania, pasteryzacji czy też suszenia (Bernas i Jaworska, 2015). Do zastosowań naukowych i medycznych (czasami przemysłowych) wykorzystywane jest pasmo o częstotliwości 915 MHz, natomiast w gospodarstwach domowych (w kuchenkach mikrofalowych) oraz w przemyśle spożywczym najczęściej spotykane jest pasmo o częstotliwości 2450 MHz.

W badaniach własnych postanowiono określić wpływ obróbki mikrofalowej na jakość soku z buraka ćwikłowego, z uwzględnieniem różnego czasu oraz mocy działania promieniowania dielektrycznego.

## **Materiały i metody**

**Materiał do badań.** Materiałem badawczym były korzenie buraka ćwikłowego (*Beta vulgaris* L.) odmiany „czerwona kula”, o średnicy większej niż 3 cm i prawidłowych cechach użytkowych oraz organoleptycznych. Nieobrane korzenie posortowano, umyto i zblendowano za pomocą wielofunkcyjnego urządzenia Vorwerk-Thermomix TM31 (Niemcy). Miazgę podzielono na 17 części, odważając po 300 g na jedną próbę. Następnie poddano działaniu promieniowania mikrofalowego o mocy 180, 360, 600 i 800 W z zastosowaniem czterech odmiennych czasów działania – 10, 20, 30 i 60 s, a także



przygotowano próbę kontrolną bez działania mikrofal. Po upływie zadanego czasu miazgę umieszczono w lnianym worku i wytłoczono sok przy użyciu prasy hydraulicznej typu Norwalk-Juicer typ 275 (USA).

**Metody badań.** W ocenie jakości uwzględniono wydajność tłoczenia soku z miazgi, aktywność przeciwutleniającą z wykorzystaniem kationorodnika ABTS<sup>+</sup>, metod DPPH<sup>·</sup> oraz FRAP, a także określono zawartość polifenoli ogółem i barwników betalainowych.

Wydajność procesu oznaczono metodą wagowo-objętościową według wzoru:

$$W_j = \frac{M}{M_p} \cdot 100\%$$

gdzie:  $W_j$  – wydajność procesu tłoczenia (%),  $M$  – masa soku uzyskana podczas tłoczenia (g),  $M_p$  – masa początkowa miazgi użytej do tłoczenia (g) (Nadulski i in., 2013).

Do oznaczenia aktywności przeciwutleniającej oraz zawartości polifenoli ogółem próbki soków odwirowano w czasie 10 min w wirówce laboratoryjnej MPW-260R (Polska) przy 7300 obr./min. Ze zdekantowanych próbek przygotowano ekstrakty metanolowe oraz – w zależności od wykonywanej analizy – odpowiednio je rozcieńczono. Pomiaru wykonano w trzech powtórzeniach przy użyciu spektrofotometru UV-1900 UV-Vis Shimadzu (Japonia). Wyniki aktywności przeciwutleniającej przedstawiono w 100 ml soku w przeliczeniu na  $\mu\text{mol TE}$ , a polifenoli ogółem w mg równoważnika kwasu galusowego (GAE).

Oznaczenie aktywności antyoksydacyjnej (ABTS<sup>+</sup>) wykonano metodą Re i in. (1999). Absorbancję zmierzono przy długości fali  $\lambda = 734 \text{ nm}$  po upływie 6 min od zainicjowania reakcji względem wody destylowanej.

Zdolność do zmiatania wolnych rodników w metodzie DPPH<sup>·</sup> zbadano metodą Yen i Chen (1995). Absorbancję zmierzono po 10 min reakcji przy długości fali  $\lambda = 517 \text{ nm}$  względem 96% metanolu.

Badanie zdolności redukcji jonów żelaza (FRAP) przeprowadzono z wykorzystaniem metody opracowanej przez Benzie i in. (1996). Pomiaru dokonano przy długości fali  $\lambda = 595 \text{ nm}$  po 10 min od zainicjowania reakcji względem wody destylowanej.

Do oznaczenia polifenoli ogółem wykorzystano metodę opracowaną przez Xianggun i in. (2000) z użyciem odczynnika Folina-Ciocalteau. Próbkę soku

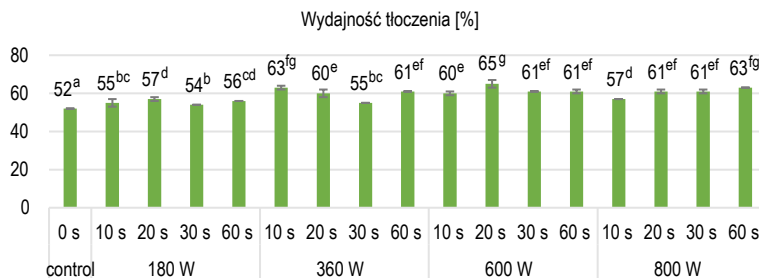
przechowywano w zacienionym miejscu przez 60 minut od zapoczątkowania reakcji, po czym wykonano pomiar przy długości fali  $\lambda = 765$  względem wody destylowanej.

Do analizy zawartości betalain w badanych próbkach zastosowano ultrasprawy chromatograf cieczowy Aquity firmy Waters (Micromass, Manchester, Wielka Brytania), sprzężony z detektorem o matrycy diodowej (PDA) oraz tandemowym detektorem mas w postaci podwójnego kwadrupła (TQD). Do rozdzielenia wykorzystano kolumnę chromatograficzną HSS T3 o wymiarach 100 mm x 2,1 mm (Waters). Elucję przeprowadzono przy przepływie 0,35 ml/min, temperatura kolumny wynosiła 50°C, a w skład fazy ruchomej wchodził 0,1% wodny roztwór kwasu mrówkowego i 40% acetonitrylu. Objętość nastrojki wynosiła 5  $\mu$ l, napięcie kapilary 3,5 kV, napięcie stożka próbkującego 45 V, a temperatura źródła jonów oraz desolvatacji wynosiła odpowiednio 120°C i 350°C. Jako gaz nośny zastosowano azot o przepływie 800 l/h. Detekcję związków betalainowych przeprowadzono w trybie jonów dodatnich przy użyciu oprogramowania Mass-Lynx 4.2 (Waters). Kwantyfikacji betaniny i wulgaksantyny dokonano na podstawie analizy półilościowej, a obliczenia przeprowadzono na podstawie pola powierzchni pików z chromatogramów zarejestrowanych przez detektor PDA w porównaniu do próby kontrolnej traktowanej jako 100%.

Wyniki analiz poddano analizie statystycznej obejmującej dwuczynnikową analizę wariancji ANOVA, przy użyciu programu Statistica 13.3 (TIBCO Software Inc.). Istotność różnic między wartościami średnimi testowano testem Duncana przy poziomie istotności  $p \leq 0,05$ . Wartości wyrażono jako średnie  $\pm$  odchylenia standardowe z trzech wykonanych powtórzeń.

## Wyniki i dyskusja

Wyniki wydajności tłoczenia soków z miazgi buraka ćwikłowego traktowanej promieniowaniem mikrofalowym przedstawiono na rycinie 1. Wykazano, że mikrofalowanie miazgi buraczanej miało istotny wpływ na zwiększenie uzysku soku we wszystkich analizowanych próbach. Wydajność tłoczenia soków oscylowała w granicach 52–65% i była najwyższa w soku z miazgi po działaniu mikrofalami o mocy 600 W przez 20 s. Wartości wydajności były wyższe w porównaniu do próby kontrolnej o 2–5% dla soków z miazgi po mikrofalowaniu o mocy 180 W, o 3–11% przy 360 W, 8–13% przy 600 W i 5–11% przy 800 W. W wyniku działania promieniowania mikrofalowego na żywność



**Ryc. 1.** Wydajność tłoczenia soków z miazgi buraka ćwikłowego poddanej działaniu promieniowania mikrofalowego  
Oznaczenia literowe na górze każdej kolumny oznaczają istotną różnicę ( $p \leq 0,05$ ).

**Fig. 1.** Juice pressing yield of beet pulp treated with microwave radiation  
Different characters on the top of each column represent significant difference ( $p \leq 0.05$ ).

wzrasta temperatura wewnętrzna oraz ciśnienie, przez co zostają rozerwane komórki i uwalniają się związki wewnątrzkomórkowe (Cardoso-Ugarte i in., 2014). Wpływa to także na podwyższenie wydajności tłoczenia soku z miazgi, co z punktu widzenia technologii żywności oraz przemysłu spożywczego jest istotnym czynnikiem.

Wyniki aktywności przeciwutleniającej oraz zawartości polifenoli ogółem w sokach wytloczonych z miazgi buraka po działaniu promieniowaniem mikrofalowym przedstawiono w tabeli 1. Aktywność antyoksydacyjna 100 ml soków mieściła się w zakresie 1080–1428  $\mu\text{mol}$  Trolox w metodzie ABTS<sup>+</sup>, 180–220  $\mu\text{mol}$  Trolox w metodzie DPPH<sup>·</sup> oraz 480–591  $\mu\text{mol}$  Trolox w metodzie FRAP. Analizując powyższe wyniki, zaobserwowano, że traktowanie miazgi buraczanej promieniowaniem mikrofalowym nie miało istotnego wpływu na potencjał antyoksydacyjny mierzony metodą ABTS<sup>+</sup>, natomiast zdolność do zmiatania wolnych rodników w metodzie DPPH<sup>·</sup> w sokach wytloczonych z miazgi po mikrofalowaniu obniżyła się o 1–15% w porównaniu do próby kontrolnej. Odwrotną zależność zaobserwowano, analizując zdolność do redukcji jonów żelaza metodą FRAP, gdzie zastosowanie promieniowania mikrofalowego na miazgę wpłynęło na podwyższenie aktywności przeciwutleniającej we wszystkich uzyskanych sokach. W tej metodzie – w porównaniu do próby kontrolnej – określono wyższe wartości w sokach z miazgi mikrofalowanej mocą 180 W o 17–23%, 360 W o 7–16%, 600 W o 6–17%

**Tabela 1.** Aktywność przeciwutleniająca i zawartość polifenoli ogółem w sokach z miazgi buraka ćwikłowego poddanej działaniu promieniowania mikrofalowego**Table 1.** Antioxidant activity and total polyphenol content of beet pulp juices treated with microwave irradiation

Czas (s)	ABTS <sup>+</sup> (μmol TE/100 ml)	DPPH <sup>·</sup> (μmol TE/100 ml)	FRAP (μmol TE/100 ml)	Polifenole ogółem (mg GAE/100 ml)
Kontrola	1100 <sup>ab</sup> ±55	211 <sup>de</sup> ±15	480 <sup>a</sup> ±57	50 <sup>a</sup> ±1
180 W				
10	1353 <sup>bc</sup> ±45	201 <sup>bcd</sup> ±12	562 <sup>fg</sup> ±7	61 <sup>cd</sup> ±3
20	1193 <sup>abc</sup> ±44	216 <sup>de</sup> ±8	588 <sup>gh</sup> ±12	66 <sup>fg</sup> ±3
30	1428 <sup>c</sup> ±45	204 <sup>bcd</sup> ±11	591 <sup>h</sup> ±18	68 <sup>gh</sup> ±2
60	1080 <sup>a</sup> ±47	206 <sup>cde</sup> ±14	567 <sup>gh</sup> ±17	72 <sup>j</sup> ±2
360 W				
10	1114 <sup>ab</sup> ±63	184 <sup>ab</sup> ±5	516 <sup>bc</sup> ±16	58 <sup>bc</sup> ±4
20	1247 <sup>abc</sup> ±63	193 <sup>abc</sup> ±12	556 <sup>ef</sup> ±20	61 <sup>cde</sup> ±1
30	1189 <sup>abc</sup> ±71	195 <sup>abcd</sup> ±9	521 <sup>bcd</sup> ±11	60 <sup>cd</sup> ±1
60	1119 <sup>ab</sup> ±46	203 <sup>bcd</sup> ±10	559 <sup>efg</sup> ±14	70 <sup>hij</sup> ±1
600 W				
10	1092 <sup>ab</sup> ±63	180 <sup>a</sup> ±10	507 <sup>b</sup> ±4	56 <sup>b</sup> ±3
20	1145 <sup>ab</sup> ±55	191 <sup>abc</sup> ±11	546 <sup>def</sup> ±21	63 <sup>de</sup> ±2
30	1261 <sup>abc</sup> ±96	190 <sup>abc</sup> ±3	545 <sup>def</sup> ±24	69 <sup>ghi</sup> ±1
60	1218 <sup>abc</sup> ±25	205 <sup>bcd</sup> ±20	563 <sup>gh</sup> ±3	69 <sup>ghij</sup> ±0
800 W				
10	1121 <sup>ab</sup> ±33	208 <sup>cde</sup> ±12	547 <sup>def</sup> ±14	61 <sup>cde</sup> ±1
20	1138 <sup>ab</sup> ±19	201 <sup>bcd</sup> ±19	515 <sup>b</sup> ±15	60 <sup>cd</sup> ±0
30	1099 <sup>ab</sup> ±29	201 <sup>bcd</sup> ±15	532 <sup>bcd</sup> ±24	65 <sup>ef</sup> ±1
60	1264 <sup>abc</sup> ±45	220 <sup>e</sup> ±4	569 <sup>gh</sup> ±20	71 <sup>ij</sup> ±2
Dwuczynnikowa analiza wariancji ANOVA				
Czynnik 1	0,195	0,001	$p < 0,001$	0,022
Czynnik 2	0,464	0,015	$p < 0,001$	0,020
Czynnik 1 × Czynnik 2	0,076	0,441	$p < 0,001$	0,076

Średnie oznaczone w kolumnach tymi samymi wartościami nie różnią się między sobą istotnie statystycznie ( $p \leq 0,05$ ); czynnik 1 – moc promieniowania mikrofalowego; czynnik 2 – czas działania promieniowania mikrofalowego; czynnik 1 × czynnik 2 – interakcje między mocą a czasem promieniowania mikrofalowego.

Means marked in columns with the same values are not statistically significantly different ( $p \leq 0,05$ ); factor 1 – microwave radiation power; factor 2 – time of microwave radiation; factor 1 × factor 2 – interactions between power and time of microwave radiation.

i 800 W o 7–17%. W badaniach Ravichandrana i in. (2013) zaobserwowano 2–3-krotny wzrost aktywności przeciwutleniającej mierzonej metodą DPPH<sup>•</sup> po działaniu promieniowaniem mikrofalowym o mocy 900 i 1800 W przez 20 i 30 s na rozdrobnionego buraka ćwikłowego w porównaniu z próbą kontrolną. Ponadto wyżej wymienieni autorzy zaobserwowali, że mikrofalowanie tego surowca mocą 450 W nie miało istotnego wpływu na poziom potencjału antyoksydacyjnego. Zawartość polifenoli ogółem w 100 ml soku buraczanego wynosiła średnio 50–72 mg GAE. Działanie mikrofal spowodowało wzrost ich zawartości o 12–45%, a istotnie wyższe wartości określono po mikrofalowaniu miazgi buraczanej przez 60 sekund we wszystkich badanych sokach.

Zawartość betaniny przedstawiono jako łączną sumę barwników fioletowo-czerwonych, a sumaryczną zawartość pigmentów żółto-pomarańczowych jako wulgaksantyny (tab. 2). Zawartość betaniny w 100 ml soku oscylowała w zakresie 47,98–57,33 mg, wulgaksantyny 30,92–37,68 mg, a sumaryczna zawartość pigmentów betalainowych mieściła się w granicach 81,29–92,95 mg. Działanie na miazgę promieniowania mikrofalowego miało istotny wpływ na wszystkie analizowane barwniki. Zawartość barwników czerwono-fioletowych w sokach istotnie wzrosła w porównaniu do próby kontrolnej – średnio o 12–19% po zastosowaniu promieniowania o mocy 180 W, o 6–19% przy 360 W, o 7–18% przy 600 W i 5–15% przy 800 W. Odwrotną zależność zaobserwowano w zawartości barwników żółto-pomarańczowych, których ilość po obróbce mikrofalowej miazgi buraczanej zmniejszyła się odpowiednio o 5–13% w sokach z miazgi mikrofalowanej mocą 180 W, 7–16% o mocy 360 i 600 W oraz 10–18% dla mocy 800 W. Najwyższą sumaryczną zawartość pigmentów betalainowych stwierdzono w 100 ml soku z miazgi poddanej działaniu mikrofal o mocy 180 W przez 20 s (92,95 mg) oraz po 60-sekundowym działaniu promieniowania o mocy 360 W (91,81 mg) i 600 W (91,27 mg).

Ravichandran i in. (2013) badali wpływ procesów termicznych – w tym obróbki mikrofalowej – na zawartość betalain. Wyniki ich badań w analizie spektrofotometrycznej sugerowały, że obróbka mikrofalowa przy 900 W lub 1800 W przez 30 s przyczyniała się do wzrostu zawartości betalain odpowiednio o 7% i 19%, natomiast w analizie HPLC wykazano, że zawartość betaniny wzrosła w przypadku obróbki mikrofalowej o mocy 450 W i 900 W, ale zmniejszyła się po zwiększeniu mocy do 1800 W. Natomiast w badaniach Cardoso-Ugarte i in. (2014) do otrzymywania betalain z pokrojonych w kostkę buraków ćwikłowych zastosowano obróbkę MAE, czyli ekstrakcję wspomaganą mikrofalami. W badaniach tych wykazano, że wykorzystanie mikrofal

**Tabela 2.** Zawartość betalain w sokach z miazgi buraka ćwikłowego poddanej działaniu promieniowania mikrofalowego**Table 2.** Betalain content of microwave-treated beet pulp juices

Czas (s)	Betanina (mg/100 ml)	Wulgaksantyna (mg/100 ml)	Suma betalain (mg/100 ml)
Kontrola	47,98 <sup>a</sup> ± 0,00	37,68 <sup>g</sup> ± 0,18	85,67 <sup>ef</sup> ± 0,18
<b>180 W</b>			
10	56,43 <sup>i</sup> ± 0,51	34,17 <sup>de</sup> ± 0,38	90,60 <sup>hij</sup> ± 0,88
20	57,33 <sup>j</sup> ± 0,36	35,61 <sup>f</sup> ± 0,87	92,95 <sup>k</sup> ± 1,23
30	53,89 <sup>e</sup> ± 0,65	32,78 <sup>c</sup> ± 0,42	86,66 <sup>fg</sup> ± 1,06
60	56,43 <sup>i</sup> ± 0,51	34,28 <sup>de</sup> ± 0,28	90,71 <sup>hij</sup> ± 0,79
<b>360 W</b>			
10	52,17 <sup>ef</sup> ± 0,24	31,84 <sup>b</sup> ± 0,08	84,00 <sup>cd</sup> ± 0,31
20	55,53 <sup>h</sup> ± 0,55	34,33 <sup>de</sup> ± 0,70	89,86 <sup>hi</sup> ± 1,25
30	50,92 <sup>bc</sup> ± 0,23	31,58 <sup>ab</sup> ± 0,12	82,50 <sup>ab</sup> ± 0,33
60	56,90 <sup>ji</sup> ± 0,51	34,91 <sup>ef</sup> ± 0,42	91,81 <sup>jk</sup> ± 0,86
<b>600 W</b>			
10	52,72 <sup>f</sup> ± 0,18	31,96 <sup>b</sup> ± 0,23	84,68 <sup>de</sup> ± 0,37
20	51,39 <sup>cd</sup> ± 0,00	31,63 <sup>ab</sup> ± 0,13	83,02 <sup>bc</sup> ± 0,05
30	54,28 <sup>g</sup> ± 0,34	33,06 <sup>c</sup> ± 0,25	87,34 <sup>e</sup> ± 0,59
60	56,47 <sup>i</sup> ± 0,58	34,80 <sup>de</sup> ± 0,50	91,27 <sup>ji</sup> ± 1,07
<b>800 W</b>			
10	50,37 <sup>b</sup> ± 0,36	30,92 <sup>a</sup> ± 0,34	81,29 <sup>a</sup> ± 0,69
20	55,18 <sup>h</sup> ± 0,65	34,08 <sup>d</sup> ± 0,44	89,26 <sup>h</sup> ± 1,08
30	52,72 <sup>f</sup> ± 0,58	33,14 <sup>c</sup> ± 0,59	85,85 <sup>ef</sup> ± 1,16
60	51,90 <sup>de</sup> ± 0,07	33,00 <sup>c</sup> ± 0,16	84,89 <sup>de</sup> ± 0,23
<b>Dwuczynnikowa analiza wariancji ANOVA</b>			
Czynnik 1/Factor 1	$p < 0,001$	$p < 0,001$	$p < 0,001$
Czynnik 2/Factor 2	$p < 0,001$	$p < 0,001$	$p < 0,001$
Czynnik 1 x Czynnik 2 Factor 1 x Factor 2	$p < 0,001$	$p < 0,001$	$p < 0,001$

Średnie oznaczone w kolumnach tymi samymi wartościami nie różnią się między sobą istotnie statystycznie ( $p \leq 0,05$ ); czynnik 1 – moc promieniowania mikrofalowego; czynnik 2 – czas działania promieniowania mikrofalowego; czynnik 1 × czynnik 2 – interakcje pomiędzy mocą a czasem promieniowania mikrofalowego.

Means marked in columns with the same values are not statistically significantly different ( $p \leq 0,05$ ); factor 1 – microwave radiation power; factor 2 – time of microwave radiation; factor 1 × factor 2 – interactions between power and time of microwave radiation.

o mocy 400 W działających 90–120 s pozwoliło na uzyskanie największej ilości czerwono-fioletowych betacyjanin, podczas gdy przedłużenie czasu do 150 s zwiększyło ekstrakcję żółto-pomarańczowych pigmentów – betaksantyn.

## Wnioski

W przeprowadzonych badaniach wykazano, że zarówno moc, jak i czas działania promieniami mikrofalowymi miały istotny wpływ na większość badanych cech jakości soków z buraka ćwikłowego. Mikrofalowanie miazgi buraczanej wpłynęło – w porównaniu do próby kontrolnej – na istotne zwiększenie uzysku soku, zdolności do redukcji jonów żelaza, zawartości polifenoli ogółem oraz betaniny w badanych sokach. Jednocześnie działanie mikrofalami na miazgę przyczyniło się do istotnego zmniejszenia potencjału antyoksydacyjnego w metodzie DPPH<sup>•</sup> oraz zawartości wulgaksantyny. W przypadku analizy aktywności przeciwutleniającej w metodzie ABTS<sup>•+</sup> nie zaobserwowano w stosunku do próby kontrolnej istotnych zmian, z wyjątkiem próby wytłoczonej z miazgi mikrofalowanej 30 s o mocy 180 W.

Podsumowując, zastosowanie promieniowania mikrofalowego do miazgi buraczanej przyczyniło się do pozyskania soku o wyższej jakości. Dodatkowo można stwierdzić, że obróbka mikrofalowa o mocy 180 W istotnie wpłynęła na podwyższenie cech prozdrowotnych, natomiast najwyższą wydajność soku uzyskano z prób poddanych działaniu promieniowania o mocy 600 W i 800 W.

**Źródło finansowania:** badania finansowane z działalności naukowej Instytutu Technologii Żywności i Żywienia Uniwersytetu Rzeszowskiego, nr konta kosztowego: 500-806-03-01.

**Konflikt interesów:** brak

## Literatura

- Bastos, E.L., Gonçalves, L.C.P. (2017). Microwave- Assisted Extraction of Betalains. W: H.D. González, M.J.G. Muñoz (red.), Water extraction of bioactive compounds (s. 245–267). Amsterdam: Elsevier.
- Benzie, I.F.F., Strain, J.J. (1996). The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a measure of “antioxidant power”: The FRAP assay. *Analytical Biochemistry*, 1(236), 70–79.
- Bernaś, E., Jaworska, G. (2015). Effect of microwave blanching on the quality of frozen *Agaricus bisporus*. *Food Science and Technology International*, 21(4), 245–255.

- Cardoso-Ugarte, G.A., Sosa-Morales, M.E., Ballard, T., Liceaga, A., Martin-Gonzalez, M.F.S. (2014). Microwave-assisted extraction of betalains from red beet (*Beta vulgaris*). *LWT – Food Science and Technology*, 59, 276–282.
- Chizoba Ekezie, F.-G., Sun, D.-W., Han, Z., Cheng, J.-H. (2017). Microwave-assisted food processing technologies for enhancing product quality and process efficiency: A review of recent developments. *Trends in Food Science & Technology*, 67, 58–69.
- Dar, A.H., Shams, R., Rizvi, Q. ul E.H., Majid, I. (2020). Microwave and ohmic heating of fresh cut fruits and vegetable products. *Fresh-Cut Fruits and Vegetables*, 295–337.
- Dhiman, A., Suhag, R., Chauhan, D.S., Thakur, D., Chhikara, S., Prabhakar, P.K. (2021). Status of beetroot processing and processed products: Thermal and emerging technologies intervention. *Trends in Food Science & Technology*, 114, 443–458.
- Herbach, K.M., Stintzing, F.C., Carle, R. (2004a). Impact of thermal treatment on color and pigment pattern of red beet (*Beta vulgaris* L.) preparations. *Journal of Food Science*, 69, C491–C498.
- Herbach, K.M., Stintzing, F.C., Carle, R. (2004b). Thermal degradation of betacyanins in juices from purple pitaya (*Hylocereus polyrhizus* (Weber) Britton & Rose) monitored by high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometric analyses. *European Food Research and Technology*, 219, 377–385.
- Khan, M.I. (2016). Plant betalains: safety, antioxidant activity, clinical efficacy, and bioavailability. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 15, 316–330.
- Martinez-Parra, J., Munoz, R. (2001). Characterization of betacyanin oxidation catalyzed by a peroxidase from *Beta vulgaris* L. roots. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49, 4064–4068.
- Nadulski, R., Zawiaślak, K., Panasiewicz, M., Strzałkowska, K. (2013). Intensyfikacja procesu tłoczenia soków z wybranych warzyw korzeniowych z zastosowaniem techniki mrożenia. *Inżynieria Rolnicza*, 1 (141), 133–141.
- Ngamwonglumlert, L., Devahastin, S., Chiewchan, N. (2017). Natural colorants: pigment stability and extraction yield enhancement via utilization of appropriate pretreatment and extraction methods. *Critical Reviews. Food Science and Nutrition*, 57, 3243–3259.
- Nirmal, N.P., Mereddy, R., Maqsood, S. (2021). Recent developments in beetroot pigment extraction techniques and their food applications. *Food Chemistry*, 356, 129611.
- PN-EN 12143:2000. Soki owocowe i warzywne – Oznaczanie zawartości substancji rozpuszczalnych metodą refraktometryczną.
- Ravichandran, K., Saw, N.M.M.T., Mohdaly, A.A.A., Gabr, A.M.M., Kastell, A., Riedel, H., Cai, Z.Z., Knorr, D., Smetanska, I. (2013). Impact of processing of red beet on betalain content and antioxidant activity. *Food Research International*, 50, 670–675.



- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology & Medicine*, 26(9–10), 1231–1237.
- Xianggun, G., Ohlander, M., Jeppson, N., Bjork L. (2000). Changes in antioxidant effects and their relationship to phytonutrient in fruits of sea buckthorn during maturation. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 48, 1485–1490.
- Yen, G.C., Chen, H.Y. (1995). Antioxidant Activity of Various Tea Extracts in Relation to Their Antimutagenicity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 43, 27–32.

### Effect of microwave irradiation on beet pulp on health-promoting properties of juice

**Abstract.** The aim of this study was to determine the effect of microwave irradiation of beet (*Beta vulgaris* L.) pulp on the health-promoting properties of its juice. The unpeeled pulp of the vegetable was subjected to microwave irradiation at 180, 360, 600 and 800 W for 10, 20, 30 and 60 seconds. Juice was pressed from the pulp after microwave treatment and without microwave treatment (control) and analyzed. The pressing efficiency, antioxidant potential by ABTS<sup>+</sup>, DPPH<sup>·</sup> and FRAP methods, total polyphenols content by F-C method and betalains content by UPLC-PDA-ESI-MS were determined. The studied juices showed a pulp juice pressing efficiency of 52–65%, antioxidant activity of 100 ml juices in the range of 1080–1428  $\mu\text{mol TE}$  by ABTS<sup>+</sup> method, 180–220  $\mu\text{mol TE}$  by DPPH<sup>·</sup> method, 480–591  $\mu\text{mol TE}$  in the FRAP method, and total polyphenols ranging from 50 to 72 mg GAE, betanin from 47.98 to 57.33 mg, vulgaxanthin from 30.92 to 37.68 mg and total betalains from 81.29 to 92.95 mg. Microwaving the pulp resulted in a significant increase in juice yield by 2–13%, an increase in iron reducing capacity by 6–23% and total polyphenol content by 12–45% and betanin content by 5–19% compared to the control sample. At the same time, a significant decrease in the free radical scavenging capacity of the DPPH<sup>·</sup> method by 1–15% and in the vulgaxanthin content by 5–18% was found. On the basis of the results obtained, it was concluded that the most beneficial, from the nutritional point of view, was the 20–30 s action of microwave radiation of 180 W, while analyzing the technological aspect, the most effective was the microwaving of the pulp with a power of 600 W for 30–60 s.

**Keywords:** beet juice, microwave radiation, antioxidant activity, pressing efficiency, betalains

# Skład białkowy jaj kurzych – zmiany w zależności od dodatku łubinu i soi do pasz

Piotr Klimowicz<sup>1</sup>, Hanna Iwan<sup>1</sup>, Aneta Tomczak<sup>1</sup>, Marcin Hejdysz<sup>2</sup>,  
Sebastian Kaczmarek<sup>3</sup>, Adam Cieślak<sup>3</sup>, Ewa Springer<sup>4</sup>,  
Magdalena Zielińska-Dawidziak<sup>1</sup>✉

<sup>1</sup>Katedra Biochemii i Analizy Żywności, Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, Poznań

<sup>2</sup>Katedra Hodowli Zwierząt i Oceny Surowców, Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, Poznań

<sup>3</sup>Katedra Żywienia Zwierząt, Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, Poznań

<sup>4</sup>Centrum Diagnostyczno-Leczniczego Alergologii „SNOZ Alergologia Plus” w Poznaniu, Poznań

✉magdalena.zielinska-dawidziak@up.poznan.pl

**Streszczenie.** Jaja kurze uznawane są za wzorzec białkowy w żywieniu dorosłego człowieka ze względu na ich skład aminokwasowy. Celem prezentowanych badań było zbadanie zmian w białkach żółtek i białek jaj kurzych otrzymanych od kur karmionych paszami zawierającymi dodatek nasion roślin bobowatych. Jaja pobrano po 4 tygodniach podawania kurom rasy Rosa pasz, w których źródłem białka była śruta sojowa (0–15,4%) lub łubin (0–25%). Zbadano zawartość białka ogółem w pobranych próbach, białka z żółtek i białek jaj ekstrahowano roztworem zawierającym Tween 20 i Triton X–100, a następnie wykonano elektroforezę SDS-PAGE i analizy slot-blot przygotowanych ekstraktów. Stwierdzono istotną statystycznie różnicę w zawartości białka ogółem w próbach pozyskanych od kur karmionych paszą o najwyższym dodatku łubinu (25%) i braku soi w paszach. Potwierdzono wpływ dodatku roślin strączkowych na zmiany w zawartości owotransferyny, owoinhibitora, owoalbuminy, apowiteleniny Va<sup>b</sup> i II<sup>b</sup>, α- i β-liwetyny fosfityny, apowiteleniny 7<sup>c</sup> i 8<sup>c</sup>. Wykonane analizy nie pozwoliły na wykluczenie wpływu modyfikacji pasz na immunoreaktywność otrzymanych jaj.

**Słowa kluczowe:** jaja, łubin wąskolistny, soja, SDS-PAGE

## Wstęp

Jaja kurze odgrywają ważną rolę w prawidłowej diecie ludzi na całym świecie ze względu na cenny skład (Alessandri i in., 2005). Są źródłem wartościowych białek, lipidów, witamin i składników mineralnych. Ze względu na cenny skład aminokwasowy Światowa Organizacja Zdrowia (WHO) uznaje jaja za międzynarodowy standard białka dla dorosłego człowieka (Allergen Search Results, 2021).

Prowadzonych jest wiele prac nad możliwością modyfikowania składu kurzych jaj, aby zwiększyć w nich zawartość składników odżywczych, np. wzbogacanie o kwasy polienowe n-3, w tym DHA, witaminy rozpuszczalne w tłuszczach (A, D, E, K) czy witaminę B12, pierwiastki śladowe, makroelementy (jod, selen), a nawet kofeinę (Pisulewski, 2001). Jednocześnie obserwuje się wzrost zainteresowania wartością odżywczą roślin gruboziarnistych z rodziny *Fabaceae* oraz możliwością ich wykorzystania jako składnika mieszanek paszowych dla drobiu. Brakuje jednak informacji o tym, jak wprowadzenie roślin bobowatych do pasz dla drobiu wpływa na skład białkowy jaj kurzych i ich alergenność.

Cenne żywieniowo jaja kurze są przyczyną jednej z najczęściej występujących alergii pokarmowych. Wśród dzieci dotyka ona nawet około 4% (Longo i in., 2013; Tomczak i in., 2021). Zgodnie z wymaganiami WHO/IUIS (Międzynarodowa Unia Towarzystw Immunologicznych) rozpoznano 18 determinant alergenowych całego jaja, z których do celów diagnostyki, terapii chorób alergicznych i badań naukowych stosuje się sześć następujących alergenów: Gal d1 (owomukoid), Gal d2 (owoalbumina), Gal d3 (owotransferyna), Gal d4 ( $\alpha$ -lizozym), Gal d5 (liwetyna) oraz Gal d6 (witelina) (Seweryn i in., 2018; Pomes i in., 2018).

Celem prezentowanych badań było zbadanie zmian w składzie białkowym jaj kurzych i ich immunoreaktywności zależnie od stosowanego źródła białka w paszach dla kur niosek.

## Materialy i metody

**Przygotowanie badanego materiału.** Analizy wykonano na żółtkach i białkach jaj pozyskanych od kur rasy Rosa w szczycie nieśności, karmionych od 25 tygodnia życia przez 4 tygodnie paszami o składzie podanym w tabeli 1. Pasze te różniły się zawartością soi (której dodatek w paszy 1 wynosił 15,43% i malał do 0% w paszy 5) i łubinu (od zawartości 0% w paszy 1 do 25% w paszy 5). Pasze grupy kontrolnej nie zawierały dodatku ani soi, ani łubinu. Jaja pobierano w 4 tygodniu karmienia kur przyrządzonymi mieszankami tylko od zdrowych zwierząt (przez 7 ostatnich dni eksperymentu) i przechowywano w temp.  $-85^{\circ}\text{C}$  do czasu analiz. Próbkę pulowano w sposób losowy w obrębie grupy doświadczalnej.

**Tabela 1.** Skład pasz przygotowanych do eksperymentu żywieniowego prowadzonego dla 6 grup nieśnych kur rasy Rosa, podawanych przez 4 tygodnie doświadczenia**Table 1.** Composition of fodders prepared for the feeding experiment for 6 groups of lay Rosa breed hens, fed during 4 weeks of the experiment

Skład pasz dla eksperymentalnych grup niosek						
Składnik (%)	1	2	3	4	5	K
Pszenica (CP 118)	58,15	53,67	50,28	48,37	47,98	30,00
Kukurydza (CP 94)	–	–	–	–	–	23,19
Śruta sojowa	<b>15,43</b>	<b>11,00</b>	<b>8,60</b>	<b>5,00</b>	–	–
Łubin wąskolistny	–	<b>10,00</b>	<b>15,00</b>	<b>20,00</b>	<b>25,00</b>	–
Groch	10,00	10,00	10,00	10,00	10,00	10
Olej rzepakowy	4,15	4,70	5,50	6,00	6,30	6,02
Wapień (drobny: gruby – 60:40)	9,15	8,10	8,10	8,05	8,06	–
Śruta rzepakowa (CP 349)	–	–	–	–	–	5,00
Śruta słonecznikowa (CP 340)	–	–	–	–	–	5,00
Gluten kukurydziany	–	–	–	–	–	5,00
Białko ziemniaczane	–	–	–	–	–	2,00
Fosforan jednowapniowy	1,28	1,28	1,29	1,30	1,31	1,52
Premix 0.5% (LNB)	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	1,00
NaCl	0,18	0,19	0,20	0,20	0,19	0,61
NaHCO <sub>3</sub>	0,35	0,30	0,29	0,29	0,29	–
DL-methionina (98%)	0,15	0,15	0,15	0,20	0,15	0,15
L-lizyna (78%)	0,15	0,02	–	0,01	0,08	0,35
L-treonina (98%)	0,05	0,02	0,02	0,01	0,04	0,02
L-tryptofan (98%)	–	–	–	–	–	0,03
L-walina (98%)	0,10	0,07	0,07	0,07	0,10	–
Energia metabolizowana (MJ/kg)	11,61	11,62	11,68	11,64	11,62	11,80
Białko ogółem	16,36	16,42	16,43	16,49	16,41	17,02
Ca	3,5	3,53	3,52	3,5	3,5	4,3

**Tabela 1 cd. / Table 1 – cont.**

Składnik (%)	1	2	3	4	5	K
P – dostępny	0,39	0,39	0,39	0,39	0,39	0,46
Na	0,18	0,17	0,17	0,18	0,18	0,24
Cl	0,18	0,16	0,16	0,17	0,17	0,46
Lizyna strawna	0,76	0,75	0,75	0,75	0,75	0,69
Metionina+Cysteina strawna	0,65	0,64	0,65	0,67	0,65	0,62
Treonina strawna	0,53	0,53	0,54	0,54	0,54	0,49
Tyrozyna strawna	0,16	0,17	0,17	0,17	0,17	0,15
Walina ogółem	0,71	0,71	0,72	0,72	0,72	–
Arginina ogółem	0,98	1,25	1,34	1,43	1,52	–
Kwas linolowy	1,73	1,67	1,84	2,01	2,16	–

**Oznaczenie białka ogółem.** Analizę białka ogółem wykonano metodą Kiejdahla (ISO, 2009).

**Przygotowanie ekstraktów.** Próbkę białka i żółtka jaj po rozmrożeniu i dokładnym zmieszaniu poddawano ekstrakcji (w proporcji 1:10 w/v) za pomocą roztworu: 1% Tween 20 + 0.4% Triton X-100, 280 mM NaCl, 40 mM NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, pH 7.4 (Tomczak i in., 2021). Ekstrakcję z wytrząsaniem prowadzono przez 18 godz. w temperaturze 4°C. Otrzymane próbki przechowywano w temperaturze –85°C. Stężenie białka w ekstraktach oznaczano metodą Smitha i in. (1985).

**Elektroforeza SDS-PAGE.** Profil białkowy badanych żółtek i białek analizowano po wykonaniu rozdziału elektroforetycznego SDS-PAGE w 14% żelu, barwionym błękitem Coomasiego. Wyniki rozdziału analizowano w programie Cliqs (Biogenet).

**Slot-blot.** W celu zbadania immunoreaktywności badanych próbek ekstrakty (300 µl) nakładano na membranę PVDF (Immunobilon P-Transfer Membrane, rozmiar porów 0,45 µm) z wykorzystaniem techniki slot-blot. Detekcję immunoreaktywnych białek przeprowadzono za pomocą surowic pozyskanych od dzieci uczulonych na żółtko i białko jaj oraz soję (tab. 2). Jako drugorzędowe przeciwciało stosowano kozie przeciwciało skierowane przeciwko ludzkim IgE (Invitrogen).

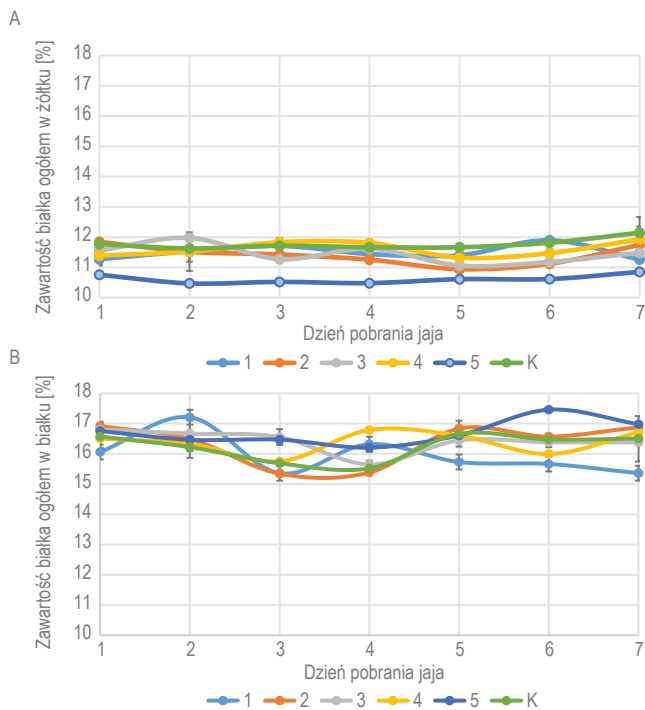
**Zgodność z wymogami etycznymi.** Zastosowanie surowic uzyskanych od pacjentów cierpiących na alergię pokarmowe zostało zatwierdzone przez Komisję Bioetyczną Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu (umowa nr 671/17 z 2017 r. i załącznik 516/19). W eksperymencie nie wykorzystano żadnych wrażliwych danych zaangażowanych osób.

**Tabela 2.** Charakterystyka surowic wykorzystanych w prezentowanych doświadczeniach  
**Table 2.** Characteristics of the sera used in the presented experiments

Nr surowicy	Klasa przeciwciał skierowanych przeciw		Pozostałe zdiagnozowane czynniki wywołujące alergię u pacjenta
	jajom kurzym (białko/żółtko)	soi	
I	0/0	2	Tymotka łąkowa, <i>Asp.fumigatus</i>
II	0/0	2	Gryka zwyczajna, orzech ziemny, orzech laskowy, orzech włoski, kakao, makrela atlantycka, pomidor, ziemniak, dorsz, łosoś, owoce cytrusowe, drożdże spożywcze, mąka pszenna, ryż, jęczmień, czosnek, cebula, marchew, pomidor, brzoskwinia, sezam, mąka żytnia
III	0	2	pyłek brzozy i dębu, pyłek olszyny i leszczyny, trawy, ziemniak, drożdże spożywcze, orzech laskowy
IV	6/3	6	sezam, mąka pszenna, mąka żytnia, orzech laskowy, orzech ziemny, orzech włoski, mleko, migdał, mleko, białko i żółtko jaja kurzego (3, na białko i na żółtko 4), pomidor, mąka pszenna, sezam, mąka żytnia, $\alpha$ -laktoalbumina $\beta$ -laktoglobulina, BSA, banan, mieszanka mąki, trawy-mix, pyłek brzozy i dębu
V	3/1	0	orzech laskowy, migdał, mleko, kazeina, $\alpha$ -laktoalbumina, $\beta$ -laktoglobulina, mąka pszenna, mąka żytnia
VI	6/2	0	orzech laskowy, mleko, dorsz, łosoś, kazeina, krewetki, ser żółty, wołowina, owoce cytrusowe, makrela atlantycka
VII	1/2	0	$\alpha$ -laktoalbumina, $\beta$ -laktoglobulina
VIII	2/2	0	$\alpha$ -laktoalbumina, $\beta$ -laktoglobulina, banan, <i>D. pteron+D. farinae</i> , pyłek brzozy i dębu, pyłek olszyny i leszczyny, trawy-mix
IX	3/0	0	orzech ziemny

## Wyniki i dyskusja

Przeprowadzona jako pierwszy etap badań analiza białka ogółem wykazała, że w przypadku żółtek skład pasz w badanych próbach nie miał istotnego wpływu na zawartość białka ogółem, która wynosiła  $16,3 \pm 0,5\%$  (ryc. 1A). Natomiast w przypadku badanych białek statystycznie istotną różnicę wykazano dla prób pozyskanych od kur karmionych paszą o najwyższym dodatku łubinu (25%) i przy braku soi w paszach. W przypadku tych jaj średnia zawartość białka ogółem wynosiła  $10,6 \pm 0,0\%$ , podczas gdy w pozostałych grupach doświadczalnych średnio  $11,5 \pm 0,3\%$  (ryc. 1B).



**Ryc. 1.** Zawartość białka ogółem w żółtku (A) i białku (B) badanych jaj 1–5 oraz K. Oznaczenia stosowanych mieszanek paszowych zgodnie z tabelą 1

**Fig. 1.** Total protein content in the yolk (A) and protein (B) of the studied egg samples 1–5 and K. Abbreviation of the used fodder mixtures in accordance with Table 1

Obserwacja ta jest prawdopodobnie wynikiem obecności w nasionach łubinu wąskolistnego polisacharydów nieskrobiowych. W literaturze wskazuje się je jako przyczynę obniżenia nieśności kur wraz z alkaloidami i ograniczoną podażą metioniny (Jeroch i Lipiec, 2018). Jednak w przeprowadzonym eksperymencie żywieniowym pozostałe czynniki wyeliminowano przez zastosowanie słodkich odmian łubinu oraz uzupełnienie składu aminokwasowego w paszach.

W ekstraktach białek przygotowanych do dalszych analiz nie stwierdzono istotnie statystycznych różnic w stężeniach białka. Ekstrahent został dobrany na podstawie danych literaturowych (Tomczak i in. 2021; Steinhoff i in., 2011). Tabela 3 przedstawia średnie stężenie białka w przygotowanych ekstraktach, które było wyższe w ekstraktach z żółtek niż z białek badanych jaj.

**Tabela 3.** Średnie stężenie białka w przygotowanych ekstraktach

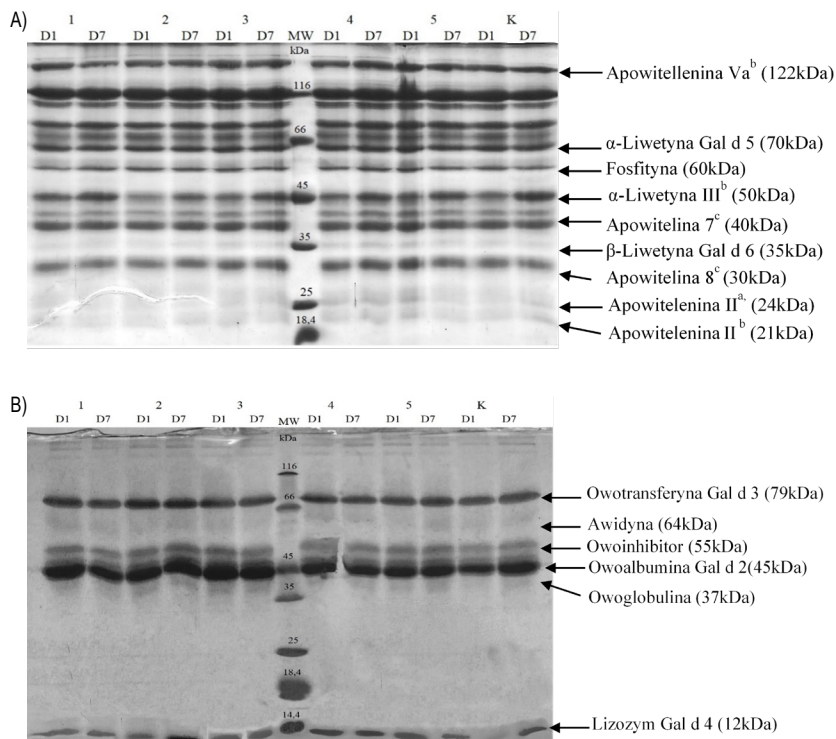
**Table 3.** Average protein concentration in the prepared extracts

Grupa badana	Średnie stężenie białka [ $\mu\text{g/ml}$ ] w przygotowanych ekstraktach z:	
	białka	żółtka
1	14,8 $\pm$ 4,8*	14,6 $\pm$ 1,1
2	11,4 $\pm$ 0,5	15,7 $\pm$ 1,6
3	10,5 $\pm$ 0,8	16,7 $\pm$ 0,1
4	10,8 $\pm$ 0,6	15,5 $\pm$ 0,1
5	12,2 $\pm$ 1,6	14,1 $\pm$ 0,2
K	10,7 $\pm$ 0,5	15,1 $\pm$ 0,8

\*Między wartościami nie stwierdzono istotnie statystycznych różnic przy poziomie istotności  $\alpha = 0,05$ .

Profil białek w otrzymanych ekstraktach analizowano po rozdziale elektroforetycznym. Otrzymane żele zaprezentowano na ryc. 2. Analiza densytopometryczna powierzchni pików wykazała istotne różnice zarówno we frakcjach wykrytych w białku, jak i żółtku badanych jaj. W białku stwierdzono wyższą zawartość owotransferyny (o 16–38%), owoinhibitora (o 29–50%) i owoalbuminy (o 30–74%) we wszystkich grupach badanych w stosunku do próbki kontrolnej, natomiast zawartość awidyny była wyższa (o 15–34%) w jajach otrzymanych od kur karmionych paszami z najwyższym udziałem zarówno soi, jak i łubinu.





**Ryc. 2.** Elektroforegramy przygotowanych ekstraktów z próbek z pierwszego (D1) i ostatniego (D7) dnia zbierania jaj od kur z grup 1–5 i K. A) profil ekstraktów z żółtka; B) profil ekstraktów z białka

**Fig. 2.** Electrophoregrams of extracts prepared from the samples from the first (D1) and last (D7) days of eggs collection, obtained from hens from groups 1–5 and K. A) profile of yolk extracts; B) profile of white extracts

W przypadku żółtek zauważono wyższą zawartość apowiteleniny Va<sup>b</sup> (o 18–73%), β-liwetyny (o 7,5–58%), apowiteleniny II<sup>b</sup> (o 4,7–89%) we wszystkich grupach badanych w stosunku do kontroli, natomiast zawartość α-liwetyny (o 16%), fosfityny (o 8%), α-liwetyny III<sup>b</sup> (o 10%), apowiteleniny 7<sup>c</sup> (o 18%), apowiteleniny 8<sup>c</sup> (o 13%) była niższa w jajach otrzymanych od kur karmionych paszami z najwyższym udziałem łubinu; zawartość apowiteleniny II<sup>a</sup> malała wraz z dodatkiem soi w mieszance paszowej.

Zmiany obserwowane w składzie białkowym badanych jaj zgodne są z założeniem, że zmiana źródła białka w paszach dla kur nieśnych może wywołać zmianę w profilu białkowym otrzymywanych jaj. Obserwacja ta odpowiada

dotychczas prezentowanym danym, które informowały o zmianie w składzie tłuszczów, witamin czy mikroelementów zawartych w jajach po modyfikacjach stosowanych pasz (Pisulewski, 2001). Jednak zmiany w składzie białkowym jaj mogą niekorzystnie wpływać na ich immunoreaktywność. Stąd otrzymane ekstrakty jaj poddano analizie z surowicami dzieci uczulonymi na białka, żółtka jaj oraz na soję. Wyniki zaprezentowano na rycinie 3. Na obecnym etapie badań nie można stwierdzić istotnych różnic w immunoreaktywności badanych jaj.

W przypadku surowic pobranych od dzieci uczulonych na soję nie stwierdzono reakcji z białkami żółtka (ryc. 3A). Ekstrakty przygotowane z białek badanych jaj reagują z surowicami dzieci uczulonych na soję, jednak na tym etapie nie jest możliwe porównanie intensywności tych reakcji (ryc. 3C).

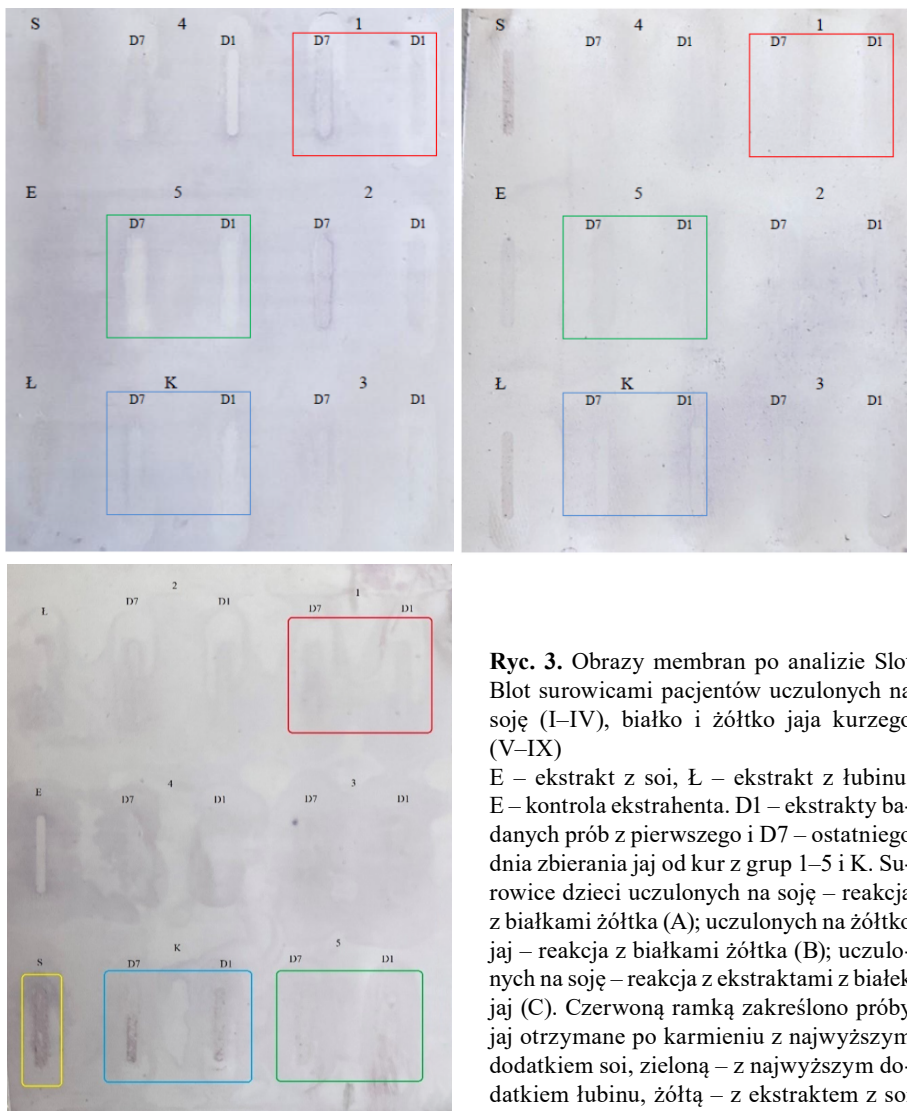
Zaskakującym wynikiem było stwierdzenie niespodziewanej reaktywności surowic pozyskanych od dzieci, dla których nie stwierdzono uczuleń na soję, lecz na żółtko lub białko jaja (surowice V–IX), z ekstraktami soi, a nawet łubinu (ryc. 3B i D). Z tego powodu konieczne jest zidentyfikowanie frakcji odpowiadających za tę reaktywność zarówno w przypadku ekstraktów soi oraz łubinu, jak i prób jaj. Reakcję surowic dzieci uczulonych na jajo (zarówno białka żółtka, jak i białka) z ekstraktem przygotowanym z soi i łubinu (ryc. 3) może wynikać z krzyżowych reakcji między kazeiną i soją, ponieważ dzieci te były jednocześnie uczulone na mleko (Candrea i in., 2015).

Ze względu na odnotowane wcześniej różnice w prezentowanych profilach białkowych konieczne jest ich rozszerzenie o badania z wykorzystaniem analizy western-blot pozwalającej na identyfikację poszczególnych białek, które wywołują immunoreaktywność próby.

Wymagane jest także wykonanie analizy z przeciwciałami poliklonalnymi skierowanymi przeciwko soi – ze względu na zaobserwowane reakcje przeciwciał dzieci nieuczulonych na jaja z badanymi próbami – w celu wykluczenia nieoczekiwanej reakcji krzyżowej między soją a białkiem jaja kurzego.

## **Wnioski**

Zaprezentowane wyniki sugerują, że modyfikacja pasz dla niosek może również istotnie wpływać na skład białkowy otrzymywanych jaj. Oligosacharydy obecne w łubinie istotnie wpłynęły na obniżenie stężenia białka ogółem w białku badanych jaj. Potwierdzono wpływ dodatku roślin strączkowych na zmiany w zawartości wskazanych frakcji białkowych (owotransferyny, owoinhibitora,



**Ryc. 3.** Obrazy membran po analizie Slot Blot surowicami pacjentów uczulonych na soję (I–IV), białko i żółtko jaja kurzego (V–IX)

E – ekstrakt z soi, Ł – ekstrakt z łubinu, E – ekstrakt kontrolny. D1 – ekstrakty badanych próbek z pierwszego i D7 – ostatniego dnia zbierania jaj od kur z grup 1–5 i K. Surowice dzieci uczulonych na soję – reakcja z białkami żółtka (A); uczulonych na żółtko jaja – reakcja z białkami żółtka (B); uczulonych na soję – reakcja z białkami białka jaja (C). Czerwoną ramką zakreślono próby jaj otrzymane po karmieniu z najwyższym dodatkiem soi, zieloną – z najwyższym dodatkiem łubinu, żółtą – z ekstraktem z soi lub łubinu, niebieską – z grupy kontrolnej.

**Fig. 3.** Images of membranes after Slot Blot analysis with sera from patients allergic to soy (I–IV), egg white and egg yolk (V–IX).

E – soybean extract, Ł – lupine extract, E – extractant control. D1 – extracts of the tested samples from the first and D7 – the last day of collecting eggs from hens from groups 1–5 and K. Sera of children allergic to soy – reaction with yolk proteins (A); allergic to yolk – reaction with yolk proteins (B); allergic to soy – reaction with white proteins (C). The red box marks the samples of eggs obtained after feeding with the highest addition of soy, green – with the highest addition of lupine, yellow – with soy or lupine extract, and blue – from the control group.

owoalbuminy, apowiteliny Va<sup>b</sup> i II<sup>b</sup>, α- i β-liwetyny fosfityny, apowiteliny 7<sup>c</sup> i 8<sup>c</sup>).

Na tym etapie badań niestety nie można było wykluczyć wpływu modyfikacji pasz na immunoreaktywność otrzymywanych jaj, stąd prezentowane wyniki zostaną rozszerzone o badanie immunoreaktywności z wykorzystaniem western-blottingu.

**Podziękowania:** surowice otrzymano z Centrum Diagnostyczno-Leczniczego Alergologii „SNOZ Alergologia Plus” w Poznaniu.

**Źródło finansowania:** prezentowane badania zostały wykonane w ramach projektu Preludium 2020/37/N/NZ9/00128.

**Konflikt interesów:** brak

## Literatura

- Alessandri, C., Calvani Jr, M., Rosengart, L., Madella, C. (2005). Anaphylaxis to quail egg. *Allergy*, 60(1), 128–129.
- Allergen Search Results. Pobrano 17 maja 2021 z: [http://www.allergen.org/search.php? Species=Gallus%20domesticus%20\(G.%20gallus\)](http://www.allergen.org/search.php? Species=Gallus%20domesticus%20(G.%20gallus))
- Pisulewski, P.M. (2001). Funkcjonalność produktów spożywczych pochodzenia zwierzęcego uzyskanych na drodze modyfikacji żywieniowej. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 4, 29.
- Longo, G., Berti, I., Burks, A.W., Krauss, B., Barbi, E. (2013). IgE-mediated food allergy in children. *The Lancet*, 382(9905), 1656–1664.
- Tomczak, A., Misiak, M., Zielińska-Dawidziak, M. (2021). Soybean and Lupine Addition in Hen Nutrition – Influence on Egg Immunoreactivity. *Molecules*, 26(14), 4319.
- Seweryn, E., Królewicz, E., Stach, K., i Kustrzeba-Wójcicka, I. (2018). Właściwości odżywcze i alergizujące jaj kurzych. *Postępy Higieny i Medycyny Doświadczalnej*, 72, 205–214.
- Pomés, A., Davies, J.M., Gadermaier, G., Hilger, C., Holzhauser, T., Lidholm, J., Goodman, R.E. (2018). WHO/IUIS allergen nomenclature: providing a common language. *Molecular Immunology*, 100, 3–13.
- ISO 1871:2009 (2009). Food and feed products – General guidelines for the determination of nitrogen by the Kjeldahl method. Genewa: ISO.
- Smith, P.K., Krohn, R.I., Hermanson, G.T., Mallia, A.K., Gartner, F.H., Provenzano, M.D., Fujimoto, F.K., Goeke, N.M., Olson, B.J., Klenk, D.C. (1985). Measurement of protein using bicinchoninic acid. *Analytical Biochemistry*, 150(1), 76–85.
- Jeroch, H., Lipiec, A. (2018). Nasiona łubinów (*Lupinus* ssp.) w żywieniu drobiu. *Wiadomości Zootechniczne*, LVI(2), 119–134.

- Steinhoff, M., Fischer, M., Paschke-Kratzin, A. (2011). Comparison of extraction conditions for milk and hen's egg allergens. *Food Additives and Contaminants – Part A: Chemistry, Analysis, Control, Exposure and Risk Assessment*, 28(4), 373–383.
- Candrea, A.M., Smaldini, P.L., Curciarello, R., Cauerhff, A., Fossati, C.A., Docena, G.H., Petruccelli, S. (2015). Cross-reactivity between the soybean protein p34 and bovine caseins. *Allergy Asthma and Immunology Research*, 7(1), 60–68.

### Chicken eggs' protein composition – changes related to lupine and soybeans addition into fodders

**Abstract.** Chicken eggs are considered a protein standard in adult nutrition due to their amino acid composition. The presented study aimed to investigate changes in the proteins of yolks and proteins of chicken eggs obtained from hens fed with feeds containing the addition of seeds of leguminous plants. Eggs were taken after 4 weeks of feeding chickens of the Rosa breed feed, in which the source of protein was soybean meal (0–15.4%) or lupine (0–25%). The total protein content of the samples was examined, and then the proteins from the yolks and egg whites were extracted with a solution containing Tween 20 and Triton X-100, followed by SDS-PAGE electrophoresis and slot-blot analysis of the prepared extracts. Observed was a significant difference in total protein content between the samples obtained from hens fed with feed with the highest lupine additive (25%) and the absence of soy in feedingstuffs. The effect of the addition of legumes on changes in the content of ovotransferrin, ovoinhibitor, ovoalbumin, apovitelenin Vab and II b,  $\alpha$ - and  $\beta$ -limethine phosphite, apovitellin 7c and 8c was confirmed. The analyses performed did not exclude the effect of feed modification on the immunoreactivity of the eggs obtained.

**Keywords:** eggs, narrowleaf lupin, soybean, SDS-PAGE

# Ocena wpływu dodatku pędów sosny (*Pinus sylvestris* L.) na właściwości fizykochemiczne i zawartość wybranych witamin w piwie typu pszenicznego

Marcin Dziedziński<sup>1</sup>✉, Joanna Kobus-Cisowska<sup>1</sup>,  
Barbara Stachowiak<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Katedra Technologii Gastronomicznej i Żywności Funkcjonalnej, Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, Poznań

<sup>2</sup>Katedra Technologii Żywności Pochodzenia Roślinnego, Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, Poznań

✉marcin.dziedzinski@up.poznan.pl

**Streszczenie.** Celem pracy była ocena możliwości wykorzystania składników aktywnych pędów sosny (*Pinus sylvestris* L.) jako składników piwa funkcjonalnego. W ramach pracy wytworzono piwo pszeniczne z dodatkiem pędów, następnie poddano je 3-miesięcznemu przechowywaniu. W całym okresie przechowywania piwo oceniano pod względem fizykochemicznym, a także oceniono zawartość wybranych witamin. Wykazano, że wytworzone piwo miało stosunkowo niską goryczkę ocenioną w skali IBU oraz jasną barwę ocenianą za pomocą parametru EBC. Dodatek pędów sosny skutkował niższymi wartościami parametru EBC, natomiast zwiększał goryczkę piwa. Wyniki badań wskazują, że pędy sosny mogą być surowcem pozwalającym na uzyskanie piwa o właściwościach funkcjonalnych i atrakcyjnych cechach sensorycznych.

**Słowa kluczowe:** *Pinus sylvestris* L., pędy sosny, witaminy, jakość piwa, polifenole, właściwości przeciwutleniające, ocena sensoryczna

## Wstęp

Aktualnie poszukuje się surowców roślinnych, których dodatek do żywności może wpłynąć na jej funkcjonalność (Kowalczewski i in., 2021). Szczegółowego znaczenia nabierają surowce, które mogą być pozyskane ze środowiska naturalnego, a ich zbiór nie powoduje szkód w ekosystemie (Moons i in., 2018). Takimi surowcami mogą być chociażby rośliny utrudniające uprawę w monokulturze lub naturalne surowce leśne, tj. pędy sosny zwyczajnej (*Pinus sylvestris* L.) (Dziedziński i in., 2021). Dzięki występowaniu w pąkach sosny zwyczajnej m.in. żywicy, kwasów organicznych i witaminy C produkty

wytwarzane z ich udziałem mają działanie wzmacniające i przeciwkaszlowe. Ponadto wyciąg z pędów sosny był stosowany jako ludowy lek, a obecnie jest składnikiem suplementów diety, np. Pycnogenolu (Sokół-Łętowska i in., 2007). Wiele standaryzowanych ekstraktów różnych gatunków sosny stosuje się też jako suplementy diety (Li i in., 2015).

Pędy nie tylko sosny, ale i innych drzew iglastych cieszą się coraz większą popularnością wśród producentów leków, suplementów oraz żywności funkcjonalnej. Zwiększa się też asortyment piw i coraz popularniejsze stają się piwa rzemieślnicze oraz bezalkoholowe, będące dobrym źródłem związków witamin, składników mineralnych i związków biologicznie aktywnych, w tym m.in. przeciwutleniaczy (Martinez-Gomez i in., 2020). Piwo od wieków jest obecne w polskiej kulturze. Napój ten cieszy się dużą popularnością i w wielu krajach jest jednym z najczęściej spożywanych napojów wśród osób dorosłych (Colen i Swinnen, 2016). Dodatkowo z roku na rok zwiększa się asortyment piw rzemieślniczych, kraftowych czy nisko- i bezalkoholowych (Spáčil i Teichmannová, 2016).

Głównym celem pracy było wytworzenie piwa pszenicznego z dodatkiem pędów sosny, a także ocena jego właściwości fizykochemicznych oraz zawartości witamin.

## Materialy i metody

**Material.** Materiałem badanym były pozyskane od producenta pędy sosny suszone na powietrzu (EkoHerba, Polska). Do wytworzenia piwa pszenicznego z pędami sosny wykorzystano trzy rodzaje słodów zakupionych od producenta Wayermann (Bamberg, Niemcy): sól pszeniczny jasny 3–5 EBC Weyerermann®, sól jęczmienny pilzneński 2,5–4,5 EBC Weyerermann® oraz sól jęczmienny 20–30 EBC Carahell®. W celu fermentacji użyte zostały drożdże SafAle WB-06 (Browamator, Polska). Do chmielenia wykorzystany został granulata chmielu Spalt Select o zawartości alfa-kwasów 4,2% (Browamator, Polska). Piwo po rozlewie i butelkowaniu przechowywane było w zaciemnionym miejscu o stałej wilgotności i temperaturze ok. 4°C. Wytworzone piwa poddano ocenie na pięciu etapach produkcji – jako brzeczka, jako piwo świeże, a następnie co miesiąc w trakcie 3-miesięcznego okresu przechowywania.

**Metody oznaczania goryczy.** Metoda polegała na wyekstrahowaniu substancji goryczkowych, głównie izo-alfa-kwasów, z próbki zakwaszonego piwa

za pomocą izooktanu i oznaczeniu ich w warstwie izooktanowej w wyniku pomiaru absorbancji, spektrofotometrycznie, przy długości fali 275 nm. Do cylindra przeniesione zostało 10 ml próby, a następnie dodano 0,5 ml kwasu chlorowodorowego i 20 ml izooktanu. Zawartość wstrząsano przez 5 minut. Po tym czasie przelano próbę do probówki wirówkowej i wirowano przez 3 minuty. Zmierzoną absorbancję warstwy izooktanowej w kuwetach kwarcowych przy długości fali 275 nm, wobec czystego izooktanu. Wartość goryczy, wyrażoną w jednostkach goryczy (IBU), obliczono ze wzoru:

$$\text{IBU} = 50 \times E_{275}$$

gdzie:  $E_{275}$  – absorbancja warstwy izooktanowej przy długości fali 275 nm  
50 – współczynnik przeliczeniowy.

**Oznaczenie barwy.** Barwę oznaczono przy użyciu spektrofotometru przy długości fali 430 nm. Odgazowane wcześniej próby piwa odwirowano (4000 obr./min) przez 10 minut. Absorbancję próby mierzono za pomocą spektrofotometru przy długości fali 430 nm, wobec wody destylowanej. Pomiar powtarzano trzykrotnie. Barwę piwa wyrażoną w jednostkach EBC obliczono ze wzoru:

$$B = 25 \times \text{wartość absorbancji}$$

**Oznaczenie zawartości witamin z grupy B.** Zawartość witamin z grupy B ( $B_1$ ,  $B_2$ ,  $B_3$ ,  $B_6$ ,  $B_9$ ,  $B_{12}$ ) analizowano przy użyciu systemu UPLC Acquity H wyposażonego w detektor Waters Acquity PDA (Waters, USA) po uprzedniej ekstrakcji enzymatycznej i kwasowej. Hydrolizę enzymatyczną prowadzono przez 2 godziny w temperaturze 50°C w obecności takadiastazy, a hydrolizę kwasową przeprowadzono przy użyciu 0,6 M kwasu solnego w kontakcie w temperaturze 90°C przez jedną godzinę. Do oznaczeń użyto kolumny Acquity UPLC® BEH C18 (50 mm × 2,1 mm, wielkość cząstek 1,7 μm) (Waters, Irlandia).

## Wyniki i dyskusja

Barwa wytworzonych piw mieściła się w przedziale 9,37–17,19 EBC (tab. 1). Najciemniejszą barwą cechowała się próbka bez dodatków pędów po 3-miesięcznym przechowywaniu (k3), natomiast najjaśniejszą – świeża próbka



**Tabela 1.** Parametry barwy i goryczki piw pszenicznych z dodatkiem pędów sosny oraz bez suplementacji

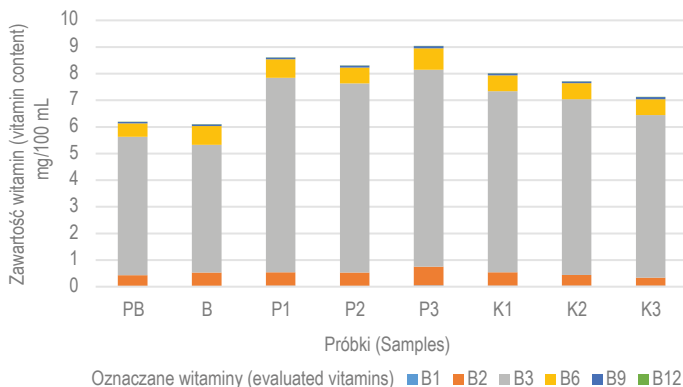
**Table 1.** Color and bitterness parameters of wheat beers with and without pine shoot supplementation

Próbka										
Parametr	kb	k0	k1	k2	k3	pb	p0	p1	p2	p3
barwa EBC	16,9	14,86	16,81	17,12	17,19	16,73	9,37	9,82	10,35	10,77
goryczka IBU	31,66	16,28	14,01	15,62	14,5	17,10	19,21	17,53	19,25	26,56

kb – brzeczka bez pędów; k1 – piwo kontrolne po 1 miesiącu przechowywania; k2 – piwo kontrolne po 2 miesiącu przechowywania; k3 – piwo kontrolne po 3 miesiącu przechowywania; pb – brzeczka piwna z pędami; p1 – piwo z pędami po 1 miesiącu przechowywania; p2 – piwo z pędami po 2 miesiącu przechowywania; p3 – piwo z pędami po 3 miesiącu przechowywania. kb – beer wort without shoots; k1 – control beer after 1 month of storage; k2 – control beer after 2 months of storage; k3 – control beer after 3 months of storage; pb – beer wort with shoots; p1 – beer with shoots after 1 month of storage; p2 – beer with shoots after 2 months of storage; p3 – beer with shoots after 3 months of storage.

z pędami sosny (p0). Wyniki te wskazują na wpływ związków zawartych w pędach na barwę. Wpływ na kolor piwa mogą mieć zarówno związki fenolowe (wpływające na aktywność przeciwutleniającą i zmętnienie), jak i kwasy, które mogą oddziaływać na stabilność związków barwnych i ich przemiany (Callemien i Collin, 2007). Pod względem goryczki wartości kształtowały się w przedziale 14,5–31,66. Największą wartość uzyskano w brzeczce niesuplementowanej pędami (kb), natomiast w przypadku piwa przechowywanego najwyższą wartością IBU cechowała się próba z pędami po 3-miesięcznym przechowywaniu (p3). Najmniejszą goryczką cechowała się natomiast próbka piwa bez pędów, która podlegała 1-miesięcznemu przechowywaniu (k1). Zauważa się wpływ pędów na goryczkę, która na ogół wzrastała wraz z czasem przechowywania. Wartość IBU brzeczki i piwa zależy głównie od izo- $\alpha$ -kwasu, nieizomeryzowanego  $\alpha$ -kwasu, polarnych związków oksydacyjnych oraz polarnych składników pochodzących ze słodu (Kishimoto i in., 2022). Przemiany związków pochodzących zarówno z chmielu, słodu, jak i pędów mogą wpływać na goryczkę piwa.

Wszystkie badane piwa cechowały się zawartością witamin B (ryc. 1). Zawartość ta była najniższa w przypadku brzeczki, natomiast najwyższa w przypadku piw suplementowanych pędami sosny. We wszystkich próbkach wykazano wysoką zawartość witaminy B3 – 4,8–7,4 mg/100 mL. Wartości te ulegały niewielkim



**Ryc. 1.** Zawartość witamin B w piwie z pędami sosny i bez suplementacji pb – brzeczka piwna z pędami; b – brzeczka bez pędów; p1 – piwo z pędami po 1 miesiącu przechowywania; p2 – piwo z pędami po 2 miesiącu przechowywania; p3 – piwo z pędami po 3 miesiącu przechowywania; k1 – piwo kontrolne po 1 miesiącu przechowywania; k2 – piwo kontrolne po 2 miesiącu przechowywania; k3 – piwo kontrolne po 3 miesiącu przechowywania

**Fig. 1.** Vitamin B content of beer with and without pine shoot supplementation

pb – beer wort with shoots; b – beer wort without shoots; p1 – beer with shoots after 1 month of storage; p2 – beer with shoots after 2 months of storage; p3 – beer with shoots after 3 months of storage; k1 – control beer after 1 month of storage; k2 – control beer after 2 months of storage; k3 – control beer after 3 months of storage

zmianom w trakcie przechowywania, gdzie w próbach z pędami była to tendencja wzrostowa, natomiast w próbach bez pędów tendencja malejąca. Obecnie dane literaturowe wskazują, że zabiegi takie jak ekspozycja na działanie światła i wysoka temperatura mogą powodować straty witamin, brak jednak informacji na temat wpływu na końcową zawartość witamin dodatku związków roślinnych, np. pędów sosny (Hucker et al., 2016). Wyższa sumaryczna zawartość tych witamin w próbkach z pędami może być skutkiem ochronnego działania związków przeciwutleniających, które znajdują się w pędach sosny (Guri et al., 2006).

## Wnioski

Pędy sosny mogą znaleźć zastosowanie jako składniki piwa, wpływając korzystnie na jego właściwości funkcjonalne. Piwo z pędami sosny ma stosunkowo

mało goryczy, o czym świadczą wyniki w skali IBU od 17 do 26, jednak więcej niż w piwie pszenicznym bez dodatku pędów. Pędy sosny wpływają również na barwę piwa i zawartość witamin. Piwo z pędami sosny charakteryzowało się jaśniejszą barwą i większą zawartością witamin z grupy B. Dodatek pędów sosny zwyczajnej (*Pinus sylvestris* L.) na etapie warzenia piwa pszenicznego może wpłynąć na zmianę cech sensorycznych piwa oraz na jego jakość podczas trzymiesięcznego okresu przechowywania, nie obniża jednak fizykochemicznych parametrów jakości w porównaniu do próby kontrolnej.

**Finansowanie:** badania dofinansowano ze środków statutowych Katedry Technologii Gastronomicznej i Żywności Funkcjonalnej Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu, numer grantu 506.751.03.00.

**Konflikt interesów:** brak

## Literatura

- Callemien, D., Collin, S. (2007). Involvement of flavanoids in beer color instability during storage. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(22), 9066–9073. <https://doi.org/10.1021/jf0716230>
- Colen, L., Swinnen, J. (2016). Economic growth, globalisation and beer consumption. *Journal of Agricultural Economics*, 67(1), 186–207. <https://doi.org/10.1111/1477-9552.12128>
- Dziedziński, M., Kobus-Cisowska, J., Stachowiak, B. (2021). *Pinus* species as prospective reserves of bioactive compounds with potential use in functional food—current state of knowledge. *Plants*, 10(7), 1306. <https://doi.org/10.3390/plants10071306>
- Guri, A., Kefalas, P., Roussis, V. (2006). Antioxidant potential of six pine species. *Phytotherapy Research*, 20(4), 263–266. <https://doi.org/10.1002/ptr.1848>
- Hucker, B., Vriesekoop, F., Vriesekoop-Beswick, A., Wakeling, L., Vriesekoop-Beswick, H., Hucker, A. (2016). Vitamins in brewing: Effects of post-fermentation treatments and exposure and maturation on the thiamine and riboflavin vitamer content of beer. *Journal of the Institute of Brewing*, 122(2), 278–288. <https://doi.org/10.1002/jib.312>
- Kishimoto, T., Teramoto, S., Fujita, A., Yamada, O. (2022). Evaluation of components contributing to the international bitterness unit of wort and beer. *Journal of the American Society of Brewing Chemists*, 80(1), 53–61. <https://doi.org/10.1080/03610470.2021.1878684>
- Kowalczewski, P., Zembruska, J., Drożdżyńska, A., Smarzyński, K., Radzikowska, D., Kieliszek, M., Jezowski, P., Sawinska, Z. (2021). Influence of potato variety on polyphenol profile composition and glycoalkaloid contents of potato juice. *Open Chemistry*, 19, 1225–1232. <https://doi.org/10.1515/chem-2021-0109>

- Li, Y.-Y., Feng, J., Zhang, X.-L., Cui, Y.-Y. (2015). Pine bark extracts: Nutraceutical, pharmacological, and toxicological evaluation. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 353(1), 9–16. <https://doi.org/10.1124/jpet.114.220277>
- Martinez-Gomez, A., Caballero, I., Blanco, C.A. (2020). Phenols and Melanoidins as Natural Antioxidants in Beer. Structure, Reactivity and Antioxidant Activity. *Biomolecules*, 10(3), 400. <https://doi.org/10.3390/biom10030400>
- Moons, I., Barbarossa, C., De Pelsmacker, P. (2018). The determinants of the adoption intention of eco-friendly functional food in different market segments. *Ecological Economics*, 151, 151–161. <https://doi.org/10.1016/j.ecolecon.2018.05.012>
- Sokół-Łętowska, A., Oszmiański, J., Wojdyło, A. (2007). Antioxidant activity of the phenolic compounds of hawthorn, pine and skullcap. *Food Chemistry*, 103(3), 853–859. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.09.036>
- Spáčil, V., Teichmannová, A. (2016). Intergenerational Analysis of Consumer Behaviour on the Beer Market. *Procedia – Social and Behavioral Sciences*, 220, 487–495. <https://doi.org/10.1016/j.sbspro.2016.05.524>

### Effect of pine (*Pinus sylvestris* L.) shoots on physicochemical properties and vitamin content in Weizen-type beer

**Abstract.** The purpose of this study was to evaluate the feasibility of using active components of pine (*Pinus sylvestris* L.) shoots as ingredients of functional beer. In this study, wheat beer was made with the addition of shoots and then subjected to 3 months of storage. Throughout the storage period the beer was assessed for physico-chemical properties and also the content of selected vitamins was evaluated. It was shown that the produced beer had a relatively low bitterness evaluated in the IBU scale and a light color evaluated by the EBC parameter. The addition of pine shoots resulted in lower values of EBC parameter, but increased the bitterness of beer. The results of the study indicate that pine shoots can be a raw material allowing to obtain beer with functional properties and attractive sensory attributes.

**Keywords:** *Pinus sylvestris* L., pine shoots, beer quality, vitamins, polyphenols, antioxidant properties, sensorics

# Wpływ inaktywacji cieplnej komórek bakterii kwasu mlekowego na ich zdolność do adhezji do śluzu jelitowego

Marcelina Karbowskiak<sup>1</sup>✉, Mateusz Pawlak<sup>1</sup>, Dorota Zielińska<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Katedra Technologii Gastronomicznej i Higieny Żywności, Zakład Higieny i Zarządzania Jakością Żywności, Instytut Nauk o Żywieniu Człowieka, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, Warszawa

✉marcelina\_karbowskiak@sggw.edu.pl

**Streszczenie.** Część przewodu pokarmowego między dwunastnicą a końcem jelita krętego jest regionem skolonizowanym przez bakterie komensalne, pokrytym warstwą śluzu złożonego głównie z glikoprotein mucynowych. Śluz pełni funkcje ochronne i odgrywa kluczową rolę w adhezji bakterii do nabłonka jelitowego, umożliwiając mikroorganizmom przeżycie i czasową kolonizację układu pokarmowego, co jest niezbędne do wywołania korzystnego wpływu na zdrowie gospodarza. Celem pracy była ocena wpływu inaktywacji cieplnej komórek bakterii kwasu mlekowego na ich zdolność do adhezji do śluzu jelitowego. Do badań wykorzystano pięć szczepów bakterii fermentacji mlekowej należących do trzech rodzajów: *Lacticaseibacillus*, *Lactiplantibacillus* oraz *Levilactobacillus* wyizolowanych z żywności, zdeponowanych w muzealnej kolekcji mikroorganizmów Zakładu Higieny i Zarządzania Jakością Żywności SGGW w Warszawie. Ponadto do badań użyto probiotycznego szczepu referencyjnego *Lactiplantibacillus plantarum* 299v. W wyniku przeprowadzonych doświadczeń wykazano zróżnicowane zdolności adhezyjne komórek bakterii kwasu mlekowego, które inaktywowano cieplnie przez 5 minut w temperaturze 80°C. Badane szczepy kwasu mlekowego z większą wydajnością wiązały się ze śluzem jelitowym w warunkach *in vitro* po 5-minutowej inaktywacji termicznej w porównaniu do żywych komórek bakterii (w zakresie 22,1–65,8%). Przeprowadzone badania dowodzą, że krótkotrwały stres termiczny bakterii ma wpływ na ich zdolność do przylegania do warstwy śluzu jelitowego.

**Słowa kluczowe:** bakterie kwasu mlekowego, inaktywacja cieplna, adhezja, śluz jelitowy, *in vitro*

## Wstęp

Probiotyki definiowane są jako „żywe mikroorganizmy, które podawane w odpowiednich ilościach przynoszą korzyści zdrowotne gospodarzowi” (Hill i in.,

2014). Niemniej jednak mechanizmy, za pośrednictwem których probiotyki oddziałują na ludzki organizm, są wciąż słabo poznane. Wiele szczepów pałeczek kwasu mlekowego wykazuje różnorodne działanie prozdrowotne. Poza tym bakterie kwasu mlekowego mają duże znaczenie dla przemysłu spożywczego ze względu na ich udział w produkcji fermentowanych produktów pochodzenia zwierzęcego i roślinnego. Korzystny wpływ na zdrowie bakterii kwasu mlekowego wynika z hamowania inwazji patogenów, poprawy funkcji bariery nabłonkowej czy modulowania układu odpornościowego (Shi i in., 2016).

Zdolności do kolonizacji jelit i przylegania (adhezji) do nabłonka jelitowego są kluczowymi cechami probiotyków, istotnymi dla przeżycia i namnażania się bakterii w przewodzie pokarmowym, ponieważ zwiększają szansę na przedłużone oddziaływanie na zdrowie gospodarza. W literaturze zauważa się, że sam pasaż bakterii probiotycznych przez przewód pokarmowy nie jest wystarczający, aby wywołać efekt prozdrowotny (Kadlec i Jakubec, 2014). Ocena adhezji do nabłonka jelita jest obecnie wykorzystana jako jedno z badań przesiewowych *in vitro* szczepów bakterii kwasu mlekowego o potencjale zastosowania jako probiotyki (Kirtzalidou i in., 2011).

Zasadniczo czynniki warunkujące adhezję komórek bakterii do nabłonka jelitowego można podzielić na: (1) oddziaływania fizyczne związane z siłami grawitacyjnymi, hydrofobowymi, van der Waalsa i termodynamicznymi; (2) czynniki białkowe, czyli białka syntetyzowane przez bakterie, związane ze ścianą komórkową, zwane adhezynami oraz (3) czynniki niebiałkowe, takie jak kwasy lipotejchajowe i egzopolisacharydy (EPS). Ponadto na przebieg procesu adhezji ma wpływ wiele innych czynników, do których można zaliczyć m.in. hydrofobowość, zdolność do agregacji czy czynniki środowiskowe – enzymy trawienne, niskie pH, sole żółci, stres osmotyczny, termiczny czy oksydacyjny. Wszystkie te elementy mogą oddziaływać na właściwości ściany komórkowej bakterii, co wpływa na ich zdolności adhezyjne (Sengupta i in., 2013). Dowiedziono ponadto, że na zdolności adhezyjne komórek bakterii ma wpływ faza wzrostu drobnoustrojów. Najlepszy efekt zaobserwowano w fazie ich logarytmicznego wzrostu (Wang i in., 2015). W przypadku czynnika stresowego, jakim jest szok temperaturowy, bakterie kwasu mlekowego cechują się opornością na skrajne wartości temperatur, przy czym ich oporność na niskie temperatury jest większa niż na temperatury wysokie. Nagłe podwyższenie temperatury prowadzi do charakterystycznej odpowiedzi adaptacyjnej związanej ze wzrostem syntezy białek szoku cieplnego (HSP, ang. heat shock proteins) obecnych w ścianie komórkowej bakterii, które uczestniczą

w renaturacji uszkodzonych białek i zabezpieczają przed agregacją. Ponadto ekspozycja komórek na warunki podwyższonej temperatury może powodować wzrost ich zdolności adhezyjnych (Fregonezi i in., 2021). Istniejące doniesienia na ten temat są jednak nieliczne. Ze względu na wielość mechanizmów regulujących odpowiedź komórek bakterii na niekorzystne warunki temperaturowe, a także ich zdolności do przylegania do nabłonka jelitowego, które nie zostały jeszcze całkowicie poznane, prowadzenie badań w tym zakresie wydaje się uzasadnione i potrzebne m.in. w aspekcie bezpieczeństwa. Poznanie mechanizmów obejmujących narażenie na czynniki stresowe, w wyniku którego bakterie komensalne i probiotyczne będą z większą siłą przylegać do nabłonka jelitowego, wpływając w ten sposób korzystnie na zdrowie gospodarza, będzie miało ogromne znaczenie dla różnych dziedzin nauki z pogranicza medycyny, biotechnologii i technologii żywności.

W procesie adhezji mikroorganizmów do nabłonka jelitowego ważną rolę odgrywa warstwa śluzu między światłem jelita a komórkami nabłonka przewodu pokarmowego. Śluz stanowi mieszaninę glikoprotein, nazywanych mucynami, i glikolipidów, które tworząc żel, pełnią funkcje ochronne i odgrywają kluczową rolę w kolonizacji przewodu pokarmowego przez mikroorganizmy. Obecność śluzu jest szczególnie istotna w okrężnicy, gdzie śluz jest najgęstszy i występuje najwięcej mikroorganizmów. Adhezja do śluzu jest zatem pierwszym etapem, w jakim zachodzi interakcja mikroorganizmów z komórkami gospodarza. W przewodzie pokarmowym człowieka warstwa śluzu może mieć zróżnicowaną grubość, od około 100  $\mu\text{m}$  do 900  $\mu\text{m}$ , na ogół zwiększając grubość od jelita cienkiego do odbytnicy (Leal i in., 2017). Zidentyfikowano wiele mechanizmów wpływających na adhezję bakterii do śluzu, które różnią się w zależności od gatunku, szczepu oraz od samej metodyki badań *in vitro* (Van Tassell i Miller, 2011). Jeden z proponowanych mechanizmów interakcji polega na związaniu oligosacharydowej części mucyn obecnych w warstwie śluzu z powierzchnią komórki bakteryjnej. Zjawisko to nazywane jest adhezją z glikoniugatami jelitowymi (Van Tassell i Miller, 2011). Ponadto warstwa śluzu, dzięki swej lepkości, również może zwiększać przyczepianie się komórek bakterii (Sullan i in., 2014). Lepkość śluzu jest wynikiem obecności w rdzeniu mucyn rozległych regionów zawierających reszty siarczanowe, wiążące regiony bogate w cysteinę (Gouyer i in., 2015).

Do badania adhezji komórek bakterii do śluzu jelitowego stosuje się różne modele *in vitro*. Są one jednak uproszczeniem warunków, które miałyby miejsce podczas badań *in vivo*, dlatego cechują się wieloma ograniczeniami.

Do najczęściej wykorzystywanych modeli do oceny *in vitro* adhezji komórek bakteryjnych należą: (1) preparaty śluzu (np. mucyny wieprzowe) umieszczone zazwyczaj w studzienkach na płytkach mikrotitracyjnych, do zalet których należy szybkość zbadania interakcji śluz–drobnoustroje, z kolei do wad – trudność w rozróżnieniu oddziaływań specyficznych dla śluzu od hydrofobowych; (2) hodowle komórkowe przypominające nabłonek jelitowy (np. nowotworowe linie Caco-2 czy HT29), które zapewniają warunki bardziej zbliżone do środowiska *in vivo*, jednak z racji pochodzenia z komórek nowotworowych mogą różnić się od zdrowej tkanki i nie odzwierciedlać charakterystycznych cech komórek błony śluzowej, w tym obecności śluzu, (3) linie komórkowe HT29 poddane działaniu metotreksatu lub fluoruracylu w celu wydzielenia różnego rodzaju śluzu, do wad których można zaliczyć fakt, iż mogą nie reprezentować odpowiedniej ekspresji genów MUC (białka wiążącego mucyny); (4) mieszane hodowle komórek wydzielających śluz; niemniej jednak istnieją ograniczone dowody literaturowe na zastosowanie tej metody w badaniu adhezji (Van Tassel i Miller, 2011).

Celem badania była ocena wpływu inaktywacji cieplnej potencjalnie probiotycznych komórek bakterii kwasu mlekowego wyizolowanych z żywności na ich zdolność do adhezji do śluzu jelitowego.

## Materialy i metody

W celu wykonania doświadczeń wykorzystano sześć szczepów bakterii fermentacji mlekowej należących do trzech rodzajów: *Lacticaseibacillus*, *Lactiplantibacillus* oraz *Levilactobacillus*, wyizolowanych z ogórków kiszonych (Zielińska i in., 2015; 2018): *Lacticaseibacillus casei* O12, *Lacticaseibacillus casei* O16, *Levilactobacillus brevis* O22, *Levilactobacillus brevis* O24 oraz *Lactiplantibacillus plantarum* O20. Szczepy te pochodziły z muzealnej kolekcji mikroorganizmów Zakładu Higieny i Zarządzania Jakością Żywności Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie. Jako szczep referencyjny wykorzystano *Lactiplantibacillus plantarum* 299v.

Zakres przeprowadzonych prac obejmował badanie zdolności komórek bakterii kwasu mlekowego do adhezji do śluzu jelitowego *in vitro*. Z tego względu w pierwszej kolejności ożywiono szczepy bakteryjne. Następnie przeprowadzono doświadczenia służące inaktywacji cieplnej komórek bakteryjnych. Celem tej części badania było zastosowanie czynnika stresowego w postaci wysokiej temperatury na komórki bakteryjne po to, by w kolejnych etapach



doświadczenia można było ocenić, czy inaktywacja cieplna ma wpływ na właściwości adhezyjne badanych komórek bakterii.

**Przygotowanie mikroorganizmów.** Szczepy bakteryjne ożywiono (48 godzin w temperaturze 37°C w pożywce MRS (De Man, Rogosa i Sharpe) (LabM, Heywood, Wielka Brytania) i poddano 3-krotnemu odwirowaniu w 10°C przez 10 minut, przy 5000 obr./min, w urządzeniu Centrifuge 5804/5804 R (Eppendorf, Hamburg, Niemcy), poprzedzonemu płukaniem buforem PBS (ang. phosphate buffer saline) (Pol-Aura, Dywity, Polska). Następnie zlano supernatant, a powstałe osady komórek bakteryjnych poddano barwieniu fluorescencyjnemu przez rozpuszczenie biomasy komórkowej w 1 ml barwnika CFDA (diocyan 5-karboksyfluoresceiny) (Sigma-Aldrich, Monachium, Niemcy) o stężeniu 100 µmol/L. Tak powstałe hodowle poddano 30-minutowej inkubacji w temperaturze 37°C. Po tym czasie hodowle odwirowano i przepłukano 2-krotnie w PBS w objętości 5 ml. Osad pozostały po zlanu supernatantu zawieszono w sterylnym buforze PBS, doprowadzając hodowlę do gęstości optycznej  $OD_{600} = 0,5$  w spektrofotometrze (Molecular Devices, San Jose, CA, USA). Tak przygotowane hodowle podzielono na dwie części. Pierwszą część umieszczono w łaźni wodnej Precision GP 05 (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA) w temperaturze 80°C na 5 minut, natomiast drugiej nie poddano inaktywacji cieplnej.

**Przygotowanie płytek mikrotitracyjnych.** Do zbadania zdolności przywierania do śluzu jelitowego przez bakterie wykorzystano 96-dołkową płytkę mikrotitracyjną Nunc MicroWell (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA). W tym celu przygotowano śluz jelitowy stanowiący mucynę pozyskaną z błony śluzowej żołądków wieprzowych (M-2378, Sigma-Aldrich, Monachium, Niemcy), rozpuszczając go w buforze PBS do końcowego stężenia 0,5 mg/ml. Następnie nanoszono mucynę w objętości 200 µl na każdy z 96 dołków i pozostawiono na całonocną inkubację w temperaturze 4°C. Po tym czasie odciągnięto niezwiązany śluz jelitowy, a każdy z dołków przepłukano 3-krotnie 200 µl roztworem PBS. Na tak przygotowane płytki nanoszono po 100 µl zawiesiny bakteryjnej każdego badanego szczepu bakterii w 4 powtórzeniach, zarówno w przypadku żywych komórek, jak i inaktywowanych termicznie. Następnie płytkę inkubowano w temperaturze 37°C przez 1 godzinę. Po inkubacji osadzony na ściankach śluz z przylegającymi do niego komórkami potraktowano roztworem 1% (w/v) SDS (ang. sodium dodecyl sulfate) (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA) w ilości 200 µl. W dalszej kolejności

zawartość każdego dołka przeniesiono na czarną 96-dołkową płytkę mikrotitracyjną służącą do pomiaru fluorescencji. Pomiaru dokonano za pomocą czytnika SpectraMax iD3 (Molecular Devices, San Jose, CA, USA) przy długościach fal  $\lambda_{\text{ex}} = 485$  i  $\lambda_{\text{em}} = 538$ , a wyniki odczytano przy użyciu programu komputerowego SoftMax Pro 7.0.3 (Molecular Devices, San Jose, CA, USA). Procentowy stopień adhezji komórek bakterii do śluzu jelitowego obliczono w następujący sposób (Moisés Laparra i in., 2011):

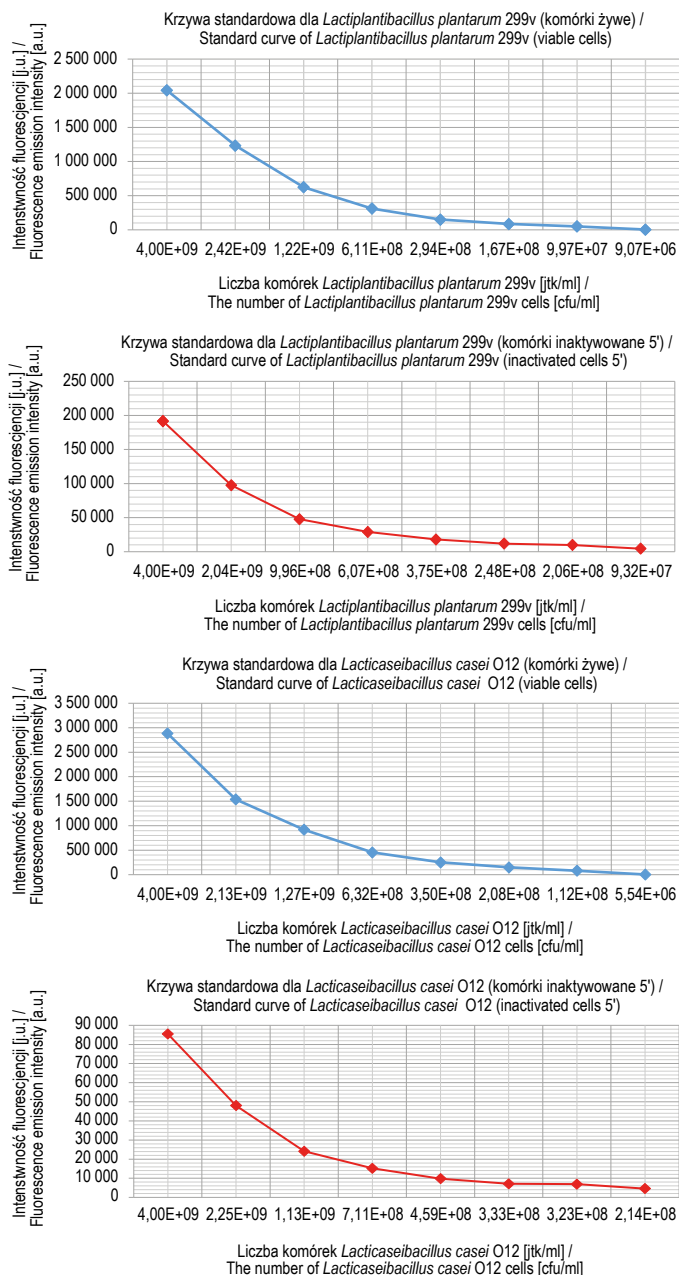
$$\% \text{adhezja} = \frac{\text{średnia z przylegających do śluzu liczby komórek bakterii} \left[ \frac{\text{jtk}}{\text{ml}} \right]}{\text{średnia z początkowej liczby komórek bakterii} \left[ \frac{\text{jtk}}{\text{ml}} \right]} \times 100$$

W celu oszacowania liczebności komórek bakterii związanych do śluzu [jtk/ml] sporządzono krzywe standardowe. W tym celu wykonano kilka rozcieńczeń zawartości każdego dołka w roztworze PBS (1:0, 1:1, 1:2, 1:4, 1:8, 1:16 oraz 1:32). Tak przygotowane roztwory naniesiono w ilości 200  $\mu\text{l}$  na czarną 96-dołkową płytkę mikrotitracyjną i za pomocą urządzenia SpectraMax iD3 (przy długościach fal identycznych jak we wcześniejszym doświadczeniu) dokonano pomiaru fluorescencji i sporządzono krzywe standardowe.

**Analiza wyników.** Liczbę bakterii wyrażano w postaci wykładniczej jako  $1 \times 10^1$  jtk/ml, z kolei na wykresach liczebność bakterii przedstawiano zgodnie z notacją naukową:  $1\text{E}+01$  jtk/ml. Uzyskane wyniki zebrano w programie Microsoft Excel. Obliczono średnią arytmetyczną. Do przeprowadzenia analizy statystycznej wykorzystano oprogramowanie Statistica 13.3 (StatSoft Inc., Tulsa, OK, USA). Zastosowano jednoczynnikową analizę wariancji ANOVA. Porównanie średnich *post-hoc* wykonano testem HSD Tukeya. Gdy charakter zmiennych nie pozwalał na wykorzystanie analizy wariancji ANOVA, zastosowano nieparametryczną alternatywę jednoczynnikowej analizy wariancji – test rang Kruskala-Wallisa. Różnicę uznano za statystycznie istotną, gdy  $p < 0,05$  w odniesieniu do wszystkich wykonanych oznaczeń.

## Wyniki i dyskusja

Na rycinie 1 przedstawiono krzywe standardowe wyznaczone w celu określenia liczebności bakterii związanych ze śluzem jelitowym [jtk/ml]. Krzywe przedstawiają zależność intensywności fluorescencji od liczby komórek bakterii badanych szczepów w szeregu sześciu rozcieńczeń, począwszy od 1:0,

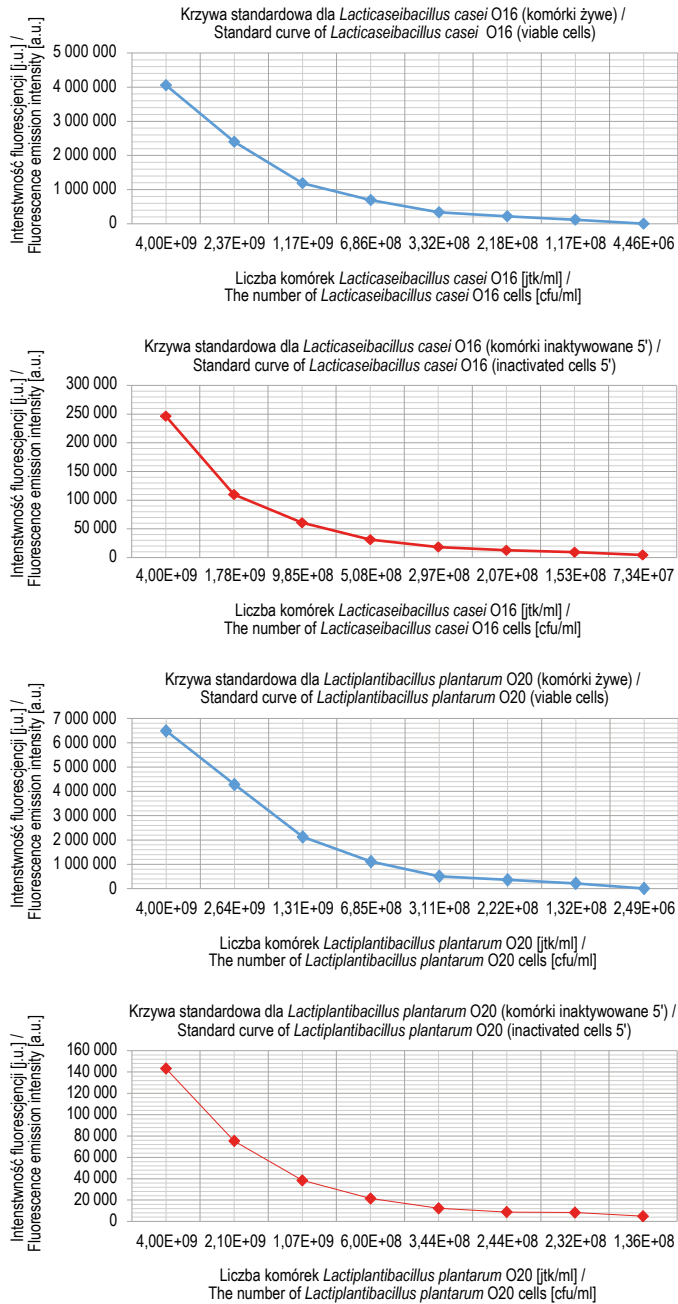


**Ryc. 1.** Krzywe standardowe zależności intensywności fluorescencji od liczby komórek szczepów bakterii poddanych badaniu w szeregu rozcieńczeń 1:0, 1:1, 1:2, 1:4, 1:8, 1:16 oraz 1:32.

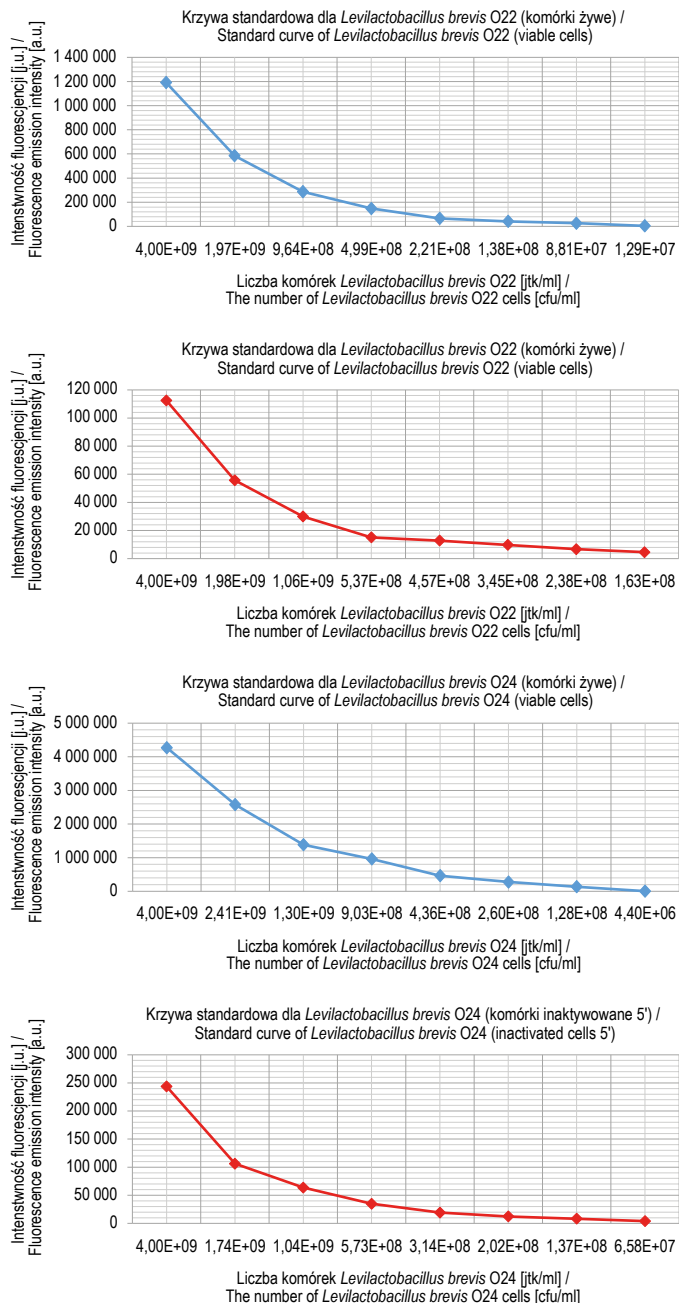
j.u. – jednostki umowne; jtk – jednostka tworząca kolonię.

**Fig. 1.** Standard curves of the dependence of the fluorescence emission intensity on the number of cells of the tested bacterial strains in a series of dilutions 1: 0, 1: 1, 1: 2, 1: 4, 1: 8, 1:16 and 1:32

a.u. – arbitrary unit; cfu – colony-forming unit.



Ryc. 1. – cd. / Fig. 1. – cont.



Ryc. 1. – cd. / Fig. 1. – cont.

a kończąc na 1:32. Dane z wykresów posłużyły do odczytania liczebności komórek bakterii przy odpowiedniej wartości pomiarów fluorescencji, którym poddano zawartość dołków na płycie mikrotitracyjnej.

Adhezję pięciu wyselekcjonowanych szczepów bakterii do śluzu jelitowego oraz referencyjnego szczepu probiotycznego *Lactiplantibacillus plantarum* 299v przedstawiono w tabeli 1.

Początkową liczbę komórek bakterii we wszystkich przypadkach doprowadzono do  $4,0 \times 10^9$  jtk/ml, z kolei po inkubacji w dołkach na płycie

**Tabela 1.** Zdolność adhezji testowanych komórek bakterii do śluzu jelitowego

**Table 1.** The adhesion ability to the intestinal mucus of the bacterial cells

Szczepy bakterii użyte do badań	Początkowa liczba bakterii [jtk/ml]	Średnia liczba przylegających żywych komórek bakterii do śluzu [jtk/ml]	Średnia liczba przylegających poddanych inaktywacji komórek bakterii do śluzu [jtk/ml]	Średnia adhezja żywych komórek [%]	Średnia adhezja inaktywowanych komórek [%]
<i>Lactiplantibacillus plantarum</i> 299v	$4 \times 10^9$	$3,2 \times 10^8$ <sup>aa</sup>	$2,34 \times 10^9$ <sup>bAC</sup>	8,0	58,5
<i>Lactocaseibacillus casei</i> O12		$3,34 \times 10^8$ <sup>aa</sup>	$1,48 \times 10^9$ <sup>bABC</sup>	8,4	37,0
<i>Lactocaseibacillus casei</i> O16		$2,99 \times 10^8$ <sup>aa</sup>	$1,52 \times 10^9$ <sup>bABC</sup>	7,5	38,1
<i>Lactiplantibacillus plantarum</i> O20		$2,0 \times 10^8$ <sup>aa</sup>	$1,65 \times 10^9$ <sup>bABC</sup>	5,0	41,3
<i>Levilactobacillus brevis</i> O22		$1,8 \times 10^8$ <sup>aa</sup>	$2,63 \times 10^9$ <sup>bAC</sup>	4,5	65,8
<i>Levilactobacillus brevis</i> O24		$3,38 \times 10^8$ <sup>aa</sup>	$8,84 \times 10^8$ <sup>bb</sup>	8,4	22,1

<sup>a, b</sup> – porównanie liczby przylegających żywych z poddanymi inaktywacji cieplnej komórkami w obrębie danego szczepu, wartości średnie oznaczone różnymi literami różnią się między sobą statystycznie istotnie ( $p < 0,05$ ); <sup>A, B, C</sup> – porównanie liczby przylegających żywych lub inaktywowanych komórek między badanymi szczepami, wartości średnie oznaczone różnymi literami różnią się między sobą statystycznie istotnie ( $p < 0,05$ ).

<sup>a, b</sup> – comparing the number of adherence of viable cells with heat-stressed cells within the same tested strain, different superscripted letters in the same strain indicate significantly different values ( $p < 0.05$ ); <sup>A, B, C</sup> – comparing the number of adherence of viable cells or heat-stressed cells between the tested strains; different superscripted letters in the same type of bacteria (viable or heat-stressed) indicate significantly different values ( $p < 0.05$ ).

mikrotitracyjnej odczytano liczebność w zakresie od  $1,8 \times 10^8$  do  $3,38 \times 10^8$  komórek żywych bakterii na 1 ml przylegających do śluzu jelitowego, co odpowiadało 4,5–8,4% populacji początkowej. W przypadku badania zdolności adhezji komórek bakteryjnych poddanych czynnikowi stresowemu uzyskano liczebność od  $8,84 \times 10^8$  do  $2,63 \times 10^9$  inaktywowanych termicznie komórek bakterii przylegających do śluzu jelitowego na 1 ml, co odpowiadało 37,0–65,8% populacji początkowej. Najwyższą 65,8-procentową adhezję zaobserwowano dla inaktywowanych cieplnie komórek *Levilactobacillus brevis* O22, z kolei najniższą również dla szczepu *Levilactobacillus brevis* O22, lecz nie-poddanego inaktywacji cieplnej – 4,5%. Wyniki badań własnych jednoznacznie wskazują, iż stres termiczny bakterii powoduje zwiększenie ich zdolności adhezji do śluzu jelitowego. We wszystkich przypadkach liczba związanych komórek ze śluzem uległa statystycznie istotnemu zwielokrotnieniu, gdy zastosowano czynnik stresowy w postaci inkubacji bakterii w temp. 80°C w czasie 5 minut. Porównanie średniej liczby przylegających żywych komórek bakterii do śluzu pomiędzy testowanymi szczepami nie wykazało istotnych statystycznie różnic. Z kolei w przypadku wariantu poddanemu stresowi termicznemu liczebność komórek bakterii *Levilactobacillus brevis* O24 różniła się istotnie statystycznie od liczby związanych ze śluzem jelitowym komórek bakterii *Levilactobacillus brevis* O22 oraz szczepu wskaźnikowego *Lactiplantibacillus plantarum* 299v.

W porównaniu do innych doświadczeń przedstawionych w literaturze, przeprowadzonych zgodnie z metodyką zastosowaną również w niniejszej pracy, żywe szczepy *Limosilactobacillus mucosae* – testowane przez Valeriano in. (2014) – wykazywały dobre zdolności adhezji do wieprzowej mucyny jelitowej. Szczep oznaczony jako LM1 cechował się względną adhezją do mucyny wielkości 75,51%, szczep oznaczony jako PF01 – 60,15%, z kolei komercyjny szczep referencyjny *Lacticaseibacillus rhamnosus* GG – 53,79%. Wyniki badań Garcia-Gonzalez i in. (2018) wykazały, iż procent adhezji żywych szczepów probiotycznych – *Lactiplantibacillus plantarum* N14 oraz *Lactiplantibacillus plantarum* LAB1 wynosił odpowiednio 79% i 92%, na poziomie około  $5 \times 10^6$  jkt na studzienkę. Co ciekawe, większość szczepów *Lactiplantibacillus plantarum* wyizolowanych z żywności poddanej procesowi fermentacji wykazywało przyczepność do mucyny wieprzowej na tym samym poziomie co probiotyki. Ponadto zauważono, że większość szczepów poddanych badaniu cechowała się zwiększonym wzrostem w studzienkach z dodanym śluzem, prawdopodobnie będąc w stanie wykorzystać mucynę jako źródło węgla.

W innym badaniu, przeprowadzonym odmienną metodyką, przez wysianie na podłoże MRS bakterii po inkubacji ze śluzem, 18 testowanych środowiskowych żywych szczepów bakterii *Lactiplantibacillus plantarum* wykazywało duże zróżnicowanie zdolności adhezji do mucyny. Niezwykle wysoki poziom przylegania do śluzu został potwierdzony dla bakteryjnych izolatów pochodzących z kału niemowląt, znacznie przewyższając adhezję dla testowanego również w niniejszym badaniu szczepu referencyjnego *Lactiplantibacillus plantarum* 299v i wszystkich pozostałych testowanych w badaniu izolatów pozyskanych z żywności fermentowanej. Zakres zmienności wynosił od 32,5% do 72,1%. Natomiast stopień adhezji szczepu *Lactiplantibacillus plantarum* 299v wyniósł 55,5% (Buntin i in., 2017). W niniejszym badaniu podobną wartość adhezji dla tego samego szczepu odnotowano w przypadku komórek poddanych szokowi termicznemu (58,5%). Porównując wyniki własnej pracy z doświadczeniami innych badaczy, w zidentyfikowanych pracach adhezja bakterii kwasu mlekowego cechowała się wyższym poziomem w porównaniu z wynikami badań własnych – również w przypadku badań, gdzie zastosowano identyczne metody pomiaru ilości komórek, które związały się ze śluzem jelitowym, jak w niniejszej pracy. Zastosowana w badaniu własnym inaktywacja cieplna spotęgowała zjawisko adhezji, wobec czego komórki bakterii po poddaniu działaniu stresowi cieplnemu przylegały do śluzu jelitowego na podobnym poziomie jak w przytoczonych pracach.

Narażenie na stres termiczny komórek probiotycznych lub potencjalnie probiotycznych w celu zbadania ich zdolności adhezji było testowane przez Haddaji i in. (2015) oraz Adu i in. (2020). Haddaji i in. (2015) poddali bakterie *Lacticaseibacillus casei* 10-minutowej inkubacji cieplnej w temperaturze 45°C, a ilościowe testy przylegania przeprowadzono na komórkach raka szyjki macicy (HeLa). Wykazano, iż po inkubacji w 45°C przyleganie obu szczepów znacznie się zwiększyło – z 28,66 do 31,33 komórek HeLa dla szczepu oznaczonego jako S1 oraz z 6,33 do 14,66 komórek HeLa dla szczepu o akronimie S2 ( $p < 0,05$ ). Natomiast w drugim badaniu podczas jednego z doświadczeń badano wpływ przylegania do komórek gruczołakoraka jelita grubego HT-29 komórek bakterii *Lacticaseibacillus paracasei* GCRL163. Adhezja do komórek HT-29 *L. paracasei* GCRL163 inkubowanych w temp. 40°C była znacznie wyższa w porównaniu z próbą kontrolą hodowaną w temp. 30°C. Zatem alternatywne metody zastępujące śluz jelitowy w doświadczeniach *in vitro* również mogą dawać różne rezultaty efektywności zależnie od zastosowanego modelu badań.



Niemniej zarówno wyniki badań własnych, jak i wyniki uzyskane we wskazanych doświadczeniach prowadzą do wspólnych jednoznacznych wniosków – poddanie komórek stresowi termicznemu spowodowało wzrost zdolności do wiązania się z zastosowaną w badaniach matrycą – mucyną wieprzową, komórkami nowotworowymi HeLa lub HT-29. Zgodnie z naszą najlepszą wiedzą istnieją nieliczne doniesienia na temat poddania komórek bakteryjnych działaniu czynnika stresowego w postaci szoku cieplnego w celu zbadania zdolności do przylegania lub hamowania adhezji chorobotwórczych bakterii do matrycy, jaką stanowi mucyna wieprzowa. Jedno z takich doświadczeń przeprowadzili Moisés Laparra i in. (2011). Niemniej jednak inaktywacji cieplnej (40°C, 50°C i 60°C) nie poddano komórek bakterii, a glikokoniugaty  $\beta$ -laktoglobuliny i kazeinianu sodu, celem zbadania stopnia hamowania adhezji do mucyny trzech patogennych szczepów *Escherichia coli*.

Śluz pokrywający komórki nabłonkowe jelita pełni funkcje ochronne i odgrywa ważną rolę w kolonizacji przewodu pokarmowego przez mikroorganizmy. Zdolność do adhezji jest uważana za ważną właściwość probiotycznych bakterii kwasu mlekowego, dzięki czemu mogą one kolonizować przewód pokarmowy. Odkryto liczne mechanizmy bakterii wspomagające adhezję do śluzu, które różnią się w zależności od konkretnego gatunku, szczepu oraz od samej metodyki badań *in vitro* (Van Tassell i Miller, 2011). Powszechnie uznaje się, że występują pozytywne korelacje między adhezją do ludzkiego śluzu jelitowego a modelami Caco-2 (Tuo i in., 2013). Komórki Caco-2, które pochodzą z ludzkiego gruczołaka okrężnicy – fragmentu jelita grubego, wykazują wiele podobieństw biochemicznych i morfologicznych do enterocytów jelitowych. Badania przeprowadzone już na początku XXI wieku (Rosenfeldt i in., 2003) dowiodły, że szczepy probiotyczne o dużej zdolności przylegania do linii komórkowej Caco-2 mogą z większą siłą przylegać do błony śluzowej okrężnicy. Innym przykładem może być zastosowanie przez Tallon i in. (2007) mucyny pozyskanej z żołądka świni, komórek Caco-2 czy macierzy błony podstawnej w badaniach adhezji 31 szczepów z rodzaju *Lactiplantibacillus plantarum*. W tym doświadczeniu badacze wyselekcjonowali pięć najefektywniejszych szczepów i poddali je działaniu na czynnik stresowy w postaci dodatku enzymów proteolitycznych, celem zbadania mechanizmów przylegania. Najistotniejsze wyniki osiągnięto w doświadczeniu z trypsyną, która hamowała przyczepność od około 50% w przypadku szczepu *L. plantarum* CBE oraz do około 85% w przypadku szczepu *L. plantarum* BMC12. W badaniu tym w dwóch pozostałych modelach *in vitro* testowano odpowiednio

przyleganie do błony podstawnej oraz przyleganie do komórek Caco-2. Rezultatem przeprowadzonych doświadczeń było stwierdzenie, iż te same szczepy w zależności od matrycy przylegania charakteryzują się różną siłą adhezji (Tallon i in., 2007).

## Wnioski

W wyniku przeprowadzonych doświadczeń wykazano zróżnicowane zdolności adhezyjne inaktywowanych cieplnie komórek bakterii fermentacji mlekowej. Badane szczepy bakterii z istotnie statystycznie większą wydajnością wiązały się ze śluzem jelitowym w warunkach *in vitro* po 5-minutowej inaktywacji termicznej w porównaniu do żywych komórek bakterii (w zakresie 22,1–65,8%). Najwyższą adhezją do śluzu jelitowego cechował się wyizolowany z ogórków kiszonych szczep *Levilactobacillus brevis* O22 poddany inaktywacji cieplnej. Przeprowadzone badania wykazały, iż stres termiczny bakterii ma istotny wpływ na ich zdolność do przylegania do warstwy śluzu jelitowego. Poza tym w przypadku szczepów środowiskowych zdolność do przylegania może świadczyć o potencjalnych właściwościach probiotycznych, które pod względem zdolności do adhezji są porównywalne ze szczepem referencyjnym *Lactiplantibacillus plantarum* 299v. Zgłębianie wiedzy na temat procesów adhezyjnych komórek bakterii i kontynuacja badań w tym zakresie powinny pomóc w interpretacji tych zjawisk. Przeprowadzone doświadczenia stanowią wstęp do zaprojektowania żywności i suplementów diety z komórkami środowiskowych bakterii kwasu mlekowego inaktywowanych termicznie, co pomoże zwiększyć bezpieczeństwo stosowania takich preparatów oraz pozwoli na osiągnięcie maksymalnych korzyści prozdrowotnych.

**Źródło finansowania:** badania sfinansowano ze środków NCN, Miniatura I 2017/01/X/NZ9/01627

**Konflikt interesów:** brak

## Literatura

Adu, K.T., Wilson, R., Baker, A.L., Bowman, J., Britz, M.L. (2020). Prolonged heat stress of *Lactobacillus paracasei* GCRL163 improves binding to human colorectal adenocarcinoma HT-29 cells and modulates the relative abundance of secreted and cell-surface located proteins. *Journal of Proteome Research*, 19, 1824–1846.

- Buntin, N., de Vos, W.M., Hongpattarakere, T. (2017). Variation of mucin adhesion, cell surface characteristics, and molecular mechanisms among *Lactobacillus plantarum* isolated from different habitats. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 101(20), 7663–7674.
- Czaczyk, K., Olejnik, A., Mięzał, P., Grajek, W. (2005). Poszukiwanie prostych modeli do badania adhezji bakterii probiotycznych. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 1(42), 84–96.
- Fregonezi, N.F., Oliveira, L.T., Singulani, J.L., Marcos, C.M., Dos Santos, C.T., Taylor, M.L., Mendes-Giannini, M., de Oliveira, H.C., Fusco-Almeida, A.M. (2021). Heat Shock Protein 60, Insights to Its Importance in *Histoplasma capsulatum*: From Biofilm Formation to Host-Interaction. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 10, 591950.
- Garcia-Gonzalez, N., Prete, R., Battista, N., Corsetti, A. (2018). Adhesion properties of food-associated *Lactobacillus plantarum* strains on human intestinal epithelial cells and modulation of IL-8 release. *Frontiers in Microbiology*, 9.
- Gouyer, V., Dubuquoy, L., Robbe-Masselot, C., Neut, C., Singer, E., Plet, S., Geboes, K., Desreumaux, P., Gottrand, F., Desseyn, J.-L. (2015). Delivery of a mucin domain enriched in cysteine residues strengthens the intestinal mucous barrier. *Scientific Reports*, 5, 9577.
- Haddaji, N., Mahdhi, A.K., Krifi, B., Ismail, M.B., Bakhrouf, A. (2015). Change in cell surface properties of *Lactobacillus casei* under heat shock treatment. *FEMS Microbiology Letters*, 362, 9.
- Hill, C., Guarner, F., Reid, G., Gibson, G.R., Merenstein, D.J., Pot, B., Morelli, L., Canani, R.B., Flint, H.J., Salminen, S., Calder, P.C. Sanders, M.E. (2014). Expert consensus document. The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic. *Nature reviews. Gastroenterology & Hepatology*, 11(8), 506–514.
- Kadlec, R., Jakubec, M. (2014). The effect of prebiotics on adherence of probiotics. *Journal of Dairy Science*, 97, 1983–1990.
- Kirtzalidou, E., Pramateftaki, P., Kotsou, M., Kyriacou, A. (2011). Screening for lactobacilli with probiotic properties in the infant gut microbiota. *Anaerobe*, 17(6), 440–443.
- Moisés Laparra, J.M., Corzo-Martinez, M., Villamiel, M., Moreno, F.J., Sanz, Y. (2011). Maillard-type glycoconjugates from dairy proteins inhibit adhesion of *Escherichia coli* to mucin. *Food Chemistry*, 129(4), 1435–1443.
- Leal, J., Smyth, H., Ghosh, D. (2017). Physicochemical properties of mucus and their impact on transmucosal drug delivery. *International Journal of Pharmaceutics*, 532(1), 555–572.
- Rosenfeldt, V., Pærregaard, A., Larsen, C.N., Møller, P.L., Tvede, M., Sandstrøm, B., Jakobsen, M., Michaelsen, K.F. (2003). Faecal recovery, mucosal adhesion, gastrointestinal effects and tolerance of mixed cultures of potential probiotic lactobacilli. *Microbial Ecology in Health and Disease*, 15, 2–9.

- Sengupta, R., Altermann, E., Anderson, R.C., McNabb, W.C., Moughan, P.J., Roy, N.C. (2013). The role of cell surface architecture of lactobacilli in host-microbe interactions in the gastrointestinal tract. *Mediators of Inflammation*, 237921.
- Shi, L.H., Balakrishnan, K., Thiagarajah, K., Mohd Ismail, N.I., Yin, O.S. (2016). Beneficial Properties of Probiotics. *Tropical Life Sciences Research*, 27(2), 73–90.
- Sullan, R.M.A., Beaussart, A., Tripathi, P., Derclaye, S., El-Kirat-Chatel, S., Li, J.K., Li, J.K., Schneider, Y.-J., Vanderleyden, J., Lebeer, S., Dufrêne, Y.F. (2014). Single-cell force spectroscopy of pili-mediated adhesion. *Nanoscale*, 6(2), 1134–1143.
- Tallon, R., Arias, S., Bressollier, P., Urdaci, M. C. (2007). Strain- and matrix-dependent adhesion of *Lactobacillus plantarum* is mediated by proteinaceous bacterial compounds. *Journal of Applied Microbiology*, 102(2), 442–451.
- Tuo, Y., Yu, H., Ai, L., Wu, Z., Guo, B., Chen, W. (2013). Aggregation and adhesion properties of 22 *Lactobacillus* strains. *Journal of Dairy Science*, 96(7), 4252–4257.
- Valeriano, V.D., Parungao-Balolong, M.M., Kang, D.-K. (2014). In vitro evaluation of the mucin-adhesion ability and probiotic potential of *Lactobacillus mucosae* LM1. *Journal of Applied Microbiology*, 117(2), 485–497.
- Van Tassel, M.L., Miller, M.J. (2011). *Lactobacillus* adhesion to mucus. *Nutrients*, 3(5), 613–636.
- Wang, L., Fan, D., Chen, W., Terentjev, E.M. (2015). Bacterial growth, detachment and cell size control on polyethylene terephthalate surfaces. *Scientific Reports*, 5, 1.
- Zielińska, D., Długosz, E., Zawistowska-Deniziak, A. (2018). Functional properties of food origin lactobacillus in the gastrointestinal ecosystem-in vitro study. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, 11, 820–829.
- Zielińska, D., Rzepkowska, A., Radawska, A., Zieliński, K. (2015). In vitro screening of selected probiotic properties of *Lactobacillus* strains isolated from traditional fermented cabbage and cucumber. *Current Microbiology*, 70, 183–194.

### Effect of thermal inactivation of lactic acid bacteria cells on their adhesion ability to intestinal mucus

**Summary.** The part of the gastrointestinal (GI) tracts between the duodenum and the terminal of the ileum is a region colonized by commensal bacteria, covered by a mucus layer composed mainly of mucin-type glycoproteins. The mucus layer plays a role in protecting the intestinal epithelial cells against damage but is also considered to be critical for the adhesion of bacteria, which allows the microorganisms to survive and temporarily colonize the GI tract, which is necessary to exert beneficial effects on the health of the host. The aim of the study was to evaluate the effect of heat stress on lactic acid bacteria cells on their ability to adhere to intestinal mucus. Five strains of lactic acid bacteria belonging to the three genera of *Lacticaseibacillus*, *Lactiplantibacillus* oraz *Levilactobacillus*, isolated from food, deposited in the Microbial Culture Collection of the Department of Hygiene and Food Quality Management at the Warsaw University of Life Sciences, were used for the study. In addition, the probiotic reference strain *Lactiplantibacillus plantarum* 299v was used for the study. As a result of the conducted experiments, different

and strain-dependent adhesive abilities were demonstrated of lactic acid bacteria cells heat-stressed for 5 minutes at 80°C. The tested lactic acid bacteria strains were more efficiently bound to intestinal mucus in *in vitro* conditions after 5-minute heat stress compared to viable cells (ranging from 22.1 to 65.8%). The conducted research shows that the short term heat stress of bacteria has an impact on their ability to adhere to the intestinal mucus layer.

**Keywords:** lactic acid bacteria, heat inactivation, adhesion, intestinal mucus, *in vitro*

# Zmiany w sposobie postrzegania karmienia naturalnego na przestrzeni lat

Aleksandra Purkiewicz✉, Renata Pietrzak-Fiećko

Katedra Towaroznawstwa i Badań Żywności, Wydział Nauki o Żywności,  
Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, Olsztyn

✉aleksandra.purkiewicz@uwm.edu.pl

**Streszczenie.** W dzisiejszych czasach karmienie dziecka mlekiem matki uważane jest za optymalne rozwiązanie, wspierające prawidłowy rozwój i wzrost organizmu dziecka. Zaleca się karmienie niemowląt piersią co najmniej do 6 miesiąca życia i kontynuowanie karmienia wraz z podawaniem pokarmów uzupełniających do 24 miesiąca życia. W XX wieku preferowano inny, bardziej restrykcyjny styl żywienia pokarmem naturalnym, nie uwzględniając między innymi psychologicznych aspektów karmienia, a pokarmem bardziej rozpowszechnionym do żywienia niemowląt było mleko modyfikowane. Celem pracy była ocena zmian poglądów dotyczących żywienia niemowląt i małych dzieci na przestrzeni ostatnich lat. Jako materiał badawczy posłużyły artykuły naukowe dotyczące karmienia piersią pozyskane z naukowych baz danych. Podejście do żywienia niemowląt zmieniło się w ciągu ostatnich 20 lat. Dawniej przyczyną niepodawania dziecku pokarmu naturalnego były czynniki socjoekonomiczne oraz demograficzne, wynikające z niższej pozycji społecznej kobiet oraz z wcześniejszego planowania macierzyństwa. Dzisiaj, kiedy coraz więcej kobiet ma pewniejszą sytuację finansową, zdobywa wykształcenie, a świadomość żywieniowa dotycząca żywienia niemowląt oraz opieki poporodowej ewoluuje, matki czują większą pewność i chęć podawania swojego pokarmu dzieciom. Obecnie większy nacisk kładzie się na suplementację nie tylko w okresie ciąży, ale także podczas laktacji. XXI wiek to również kluczowy moment w rozwoju profilaktyki dotyczącej karmienia piersią, co skłania coraz więcej matek do podjęcia decyzji o karmieniu naturalnym.

**Słowa kluczowe:** laktacja, mleko matki, czynniki determinujące

## Wstęp

Prawidłowy stan odżywienia jest czynnikiem decydującym o zdrowiu zarówno somatycznym, jak i psychologicznym oraz społecznym. Jakość żywności jest uzależniona przede wszystkim od procesów technologicznych oraz wymogów producentów i technologów żywności (Socha i in., 2010). Niemowlęta i dzieci do 3 roku życia są grupą, dla której żywność podlega szczególnej

kontroli, dlatego restrykcje w produkcji tej żywności są znacznie większe niż w przypadku żywności konwencjonalnej. Mimo coraz większej różnorodności preparatów do żywienia niemowląt na rynku zgodnie z zaleceniami Światowej Organizacji Zdrowia (WHO) zaleca się karmienie niemowląt wyłącznie mlekiem matki przez pierwsze 6 miesięcy życia oraz kontynuowanie karmienia w dalszym okresie życia dziecka wraz z odpowiednimi pokarmami uzupełniającymi co najmniej do 2 roku życia dziecka (Butts i in., 2018). Karmienie piersią powinno być kontynuowane tak długo, jak będzie to pożądane przez matkę i dziecko (Santacruz-Salas i in., 2020). Karmienie dziecka mlekiem matki uważane jest za optymalne rozwiązanie wspierające prawidłowy rozwój i wzrost organizmu dziecka (Shaefer i in., 2020). Pomimo licznych udowodnionych korzyści zdrowotnych dla dziecka wynikających z karmienia piersią przeszło 40% niemowląt na świecie nie doświadcza karmienia naturalnego (Victora i in., 2016). Samo podjęcie się karmienia piersią oraz właściwe jego utrzymanie jest zależne m.in. od czynników społeczno-ekonomicznych, kulturowych, rodzinnych, a także od indywidualnych zachowań matki i dziecka. Rozpowszechnienie oraz praktyka karmienia piersią są również zdeterminowane w znacznym stopniu podejściem służby zdrowia do promocji karmienia piersią, zarówno w okresie prenatalnym, macierzyńskim, jak i dziecięcym (Rollins i in., 2016). W ostatnich latach zmieniło się podejście do karmienia niemowląt, a mleko matki jest obecnie uważane za „złoty standard” w ich żywieniu. W XX wieku preferowano inny, bardziej restrykcyjny styl żywienia pokarmem naturalnym, nie biorąc pod uwagę psychologicznych aspektów karmienia, a pokarmem najbardziej rozpowszechnionym do żywienia niemowląt było mleko modyfikowane.

Celem pracy jest ocena zmiany poglądów dotyczących żywienia niemowląt i małych dzieci w ostatnich kilkudziesięciu latach.

## **Material i metody**

Niniejsza praca ma charakter przeglądowny. Dokonano przeglądu literaturowego, aby stwierdzić, jak zmieniały się zachowania oraz nastawienie kobiet do karmienia niemowląt. Jako materiał badawczy posłużyły artykuły naukowe dotyczące karmienia piersią, pozyskane z baz: Springer Book Series, Elsevier books full-text-access, Scopus, ReserachGate, Scientific Reserach Publishing, POL-on, Polska Biblioteka Naukowa (PBN), PubMed i ScienceDirect. Praca powstała na podstawie analizy 29 źródeł literatury.

## Przedstawienie problematyki

Poglądy dotyczące karmienia naturalnego ewoluują w czasie. Wpływa na to wiele czynników, takich jak status socjoekonomiczny, czynniki demograficzne czy styl odżywiania kobiet. Zgodnie z polityką lat 70. XX wieku silnie promowano sztuczne karmienie niemowląt, co miało ogromny wpływ na kobiety i zniechęcało je do karmienia naturalnego (Silska, 2013). Badania wskazują na znaczny wzrost liczby niemowląt karmionych mlekiem matki z początkiem XXI wieku. Zaczęto wówczas wdrażać programy profilaktyczne wspierające kobiety ciężarne i karmiące oraz rozpoczęto inicjowanie programów wspierających zdrowie publiczne (Lubold, 2019). Efekty podjętych działań zaczęto obserwować w krótkim czasie – w wielu państwach odsetek kobiet podejmujących karmienie piersią sukcesywnie rósł. W jednym z brazylijskich miast w latach 2001–2013 odsetek niemowląt karmionych naturalnie wzrósł o 7%. Mimo coraz większej liczby dzieci karmionych mlekiem matki do 46% Światowa Organizacja Zdrowia (WHO) nadal uważała ten wynik za niewystarczający. W tym samym okresie oprócz rozpowszechnienia praktyki karmienia piersią wydłużono zalecany okres karmienia. Coraz więcej kobiet decyduje się kontynuować karmienie powyżej 6 miesięcy, a spora grupa – nawet powyżej 12 miesięcy (Toriyama i in., 2017). XXI wiek zainicjował postrzeganie mleka kobiecego jako „złotego standardu” w żywieniu niemowląt (Shaefei i in., 2020).

## Omówienie zagadnień

Na przestrzeni lat znacznie zmieniło się podejście do karmienia naturalnego. W latach 50. i 60. XX wieku dużą wagę przykładano do regularności karmienia piersią. Pediatrzy zalecali rozpoczęcie karmienia dopiero 12 godzin po porodzie i przestrzeganie schematu karmienia o konkretnych porach, z przerwami nie dłuższymi niż 3–3,5 godziny. Od końca lat 80. zaprzestano restrykcyjnego stosowania tych wytycznych. Przede wszystkim zrezygnowano z regularnych karmień o jednakowych porach, a rekomendowaną metodą utrzymania laktacji jest tzw. karmienie na żądanie dziecka oraz matki zarówno w dzień, jak i w nocy (Szajewska i in., 2016). Dzisiaj WHO rekomenduje karmienie na żądanie i pierwsze przystawianie dziecka do piersi bezpośrednio po porodzie oraz podawanie wyłącznie pokarmu matki przez pierwsze 6 miesięcy życia dziecka i kontynuację karmienia wraz z pokarmami



uzupełniającymi do 24 miesiąca życia lub dłużej (Szajewska i in., 2021). Ponadto pokarmy uzupełniające powinny być podawane dziecku łyżeczką, a nie w butelce. Dzisiaj większą wagę przykładana się do samopoczucia psychicznego matki już od pierwszych chwil życia jej dziecka. Wiele szpitali wprowadza tzw. rooming-in – sale do karmienia noworodków, gdzie kobiety mogą w ciszy karmić swoje dziecko i nauczyć się przezwyciężać początkowe trudności (Shrivastava i in., 2013).

Sposób żywienia niemowląt w połowie XX wieku był w znacznej mierze uwarunkowany stopniem uprzemysłowienia danego kraju. Obserwowano wówczas następującą tendencję – im bardziej dany kraj był rozwinięty, tym mniej matek karmiło naturalnie. Zachowania te były uzależnione od zamożności rodzin – większe zarobki pozwalały na zakup wchodzącego w tamtych czasach na rynek mleka modyfikowanego. Kobietom stwarzało to większe możliwości pracy poza domem, poświęcania uwagi swoim obowiązkom i zainteresowaniom. Z kolei w krajach rozwijających się karmienie naturalne w tamtym czasie było gwarancją przeżycia dziecka, gdyż był to jedyny sposób żywienia niemowląt ze względu na brak możliwości finansowych zakupu gotowych pokarmów do żywienia niemowląt. W połowie wieku XX liczba kobiet karmiących naturalnie sukcesywnie malała, a według danych statystycznych najniższa była w latach 1970–1975. Podaje się, że w wielu krajach odsetek karmiących spadł poniżej 50%, a w Polsce naturalnie karmiła 1 na 10 kobiet (Silska, 2013). Przełomowe okazały się lata 90. XX wieku, kiedy zaczęto wdrażać promocję karmienia piersią mającą na celu zwiększenie odsetka kobiet karmiących naturalnie. Efekty działań były widoczne już na początku lat 2000 – w wielu krajach Europy, w tym w Polsce, świadomość kobiet dotycząca karmienia zwiększyła się i odsetek dzieci karmionych naturalnie wzrastał (Trojanowska i in., 2017). WHO podaje, że w 2012 roku około 40% niemowląt poniżej 6 miesiąca życia dostawało wyłącznie pokarm matki. Ponadto od początku XXI wieku jednogłośnie odradza się mamom podawanie dzieciom smoczków, które uznano za ograniczenie przy karmieniu piersią. Podawanie smoczków niemowlętom jest kojarzone z mniejszą częstotliwością i skróceniem czasu trwania karmienia. Zachowanie to jest nadal szeroko rozpowszechnione na świecie i w krajach Europy, w tym w Polsce, jednak wiele kobiet rezygnuje ze smoczków (Buccini i in., 2015).

Na ogólny wzrost zainteresowania aspektem karmienia piersią istotny wpływ wywiera także zmiana cech socjodemograficznych. Badacze wykazują związek między wiekiem matki a rozpoczęciem karmienia piersią. Simpson

i in. (2019) wykazali, że matki w wieku 30 lat i starsze były bardziej chętne do karmienia dziecka piersią niż te poniżej 30 roku życia. W XXI wieku kobiety później decydują się na posiadanie dziecka z powodu rosnącego zainteresowania zdobyciem wyższego wykształcenia i dobrze płatnej pracy, co powoduje odkładanie macierzyństwa na późniejszy czas. Istnieje pogląd, że kobiety, które urodziły dziecko bardzo wcześnie, rzadziej decydują się na karmienie piersią. Wynika to przede wszystkim z braku poczucia bezpieczeństwa oraz ograniczonej wiedzy dotyczącej korzyści dla dziecka i matki wynikających z karmienia piersią. Kobiety mające jedno dziecko karmią je statystycznie krócej niż te, które karmią drugie lub następne dziecko. Podaje się, że kolejne urodzone dzieci są karmione dłużej ze względu na nabycie przez kobietę większego doświadczenia oraz często dojrzałsze podejście do karmienia dziecka (Martins i in., 2014). Oprócz wieku i liczby urodzonych dzieci na karmienie naturalne częściej decydują się matki z wykształceniem wyższym. Wraz z początkiem XXI wieku rola kobiet zaczęła się stopniowo zmieniać – kobietom bardziej zaczęło zależeć na samokształceniu i niezależności, co koreluje z większą liczbą kobiet zdobywających wykształcenie wyższe niż w latach 80. i 90. XX wieku (Parker, 2015). Rozwijająca się świadomość żywieniowa sprawia, że podejście do karmienia jest bardziej holistyczne i głoszone są zupełnie inne poglądy na jego temat w porównaniu do tych z ubiegłego wieku. Odeszło się od pewnych schematów dotyczących zachowań towarzyszących karmieniu i większą wagę przykładą się do komfortu dziecka i matki, a nie do sztywnych reguł (Krol i Grossmann, 2018). Wykazano również związek między statusem społeczno-ekonomicznym a podejściem do karmienia piersią. Matki z wyższych grup społeczno-ekonomicznych – takich jak grupy kierownicze i przedstawicielki zawodów wymagających wyższych kwalifikacji – mają wyższe dochody, łatwiejszy dostęp do uprawnień macierzyńskich oraz przyjaznych rodzinie warunków pracy (Skafida, 2009). Wyższe dochody partnera dają kobiecie możliwość skupienia się bardziej na wychowaniu dziecka, a nie na pracy, w szczególności w okresie noworodkowym i niemowlęcym (Rempel i Rempel, 2011; Simpson i in., 2019). Zmiana cech demograficznych spowodowała tendencję spadkową dotyczącą palenia papierosów podczas ciąży i karmienia. Badania literaturowe wskazują, że po nikotynę w ciąży częściej sięgały matki młodsze, słabiej wykształcone, niezamężne lub samotnie wychowujące dziecko, należące do niższych grup społeczno-ekonomicznych. Nikotyna utrudnia proces laktacji, ma negatywny wpływ na produkcję mleka matki oraz odruch ssania inicjowany przez dziecko (Napierala i in., 2016).

Obecnie na rynku dostępnych jest wiele rodzajów mleka modyfikowanego, zarówno do początkowego, jak i dalszego żywienia niemowląt i małych dzieci. Mieszanki mleczne są reklamowane jako wartościowy pokarm dla niemowląt, a ich producenci starają się jak najbardziej upodobnić je do mleka matki (Nehring-Gugulska, 2017). Do lat 90. XX wieku popularne było przygotowywanie domowych mieszanek mlecznych, na bazie mleka pełnego, wody, cukru, kleiku i mąki. Od 3 miesiąca życia dziecka wprowadzano do diety gluten pszenicy, jednak w latach 90. wprowadzanie glutenu zostało przesunięte na 10 miesiąc życia dziecka z powodu coraz częściej występującej celiakii i nieceliakalnej nadwrażliwości na gluten (Sielska, 2013). Od kilkunastu lat rekomenduje się wprowadzanie glutenu do diety dzieci karmionych piersią w 5 miesiącu życia, a karmionych sztucznie – w 6 miesiącu (Sawiec i in., 2007), natomiast ryby, orzechy i jaja – po 7 miesiącu życia (Mach-Tomalska i Fyderek, 2012). Przełomowym momentem dla mleka modyfikowanego w Polsce były lata 80., kiedy pierwsze firmy wprowadzały na rynek swoje produkty. Dekadę później do sztucznego karmienia niemowląt wykorzystywano już wyłącznie mleko modyfikowane i całkowicie odeszło się od domowych mieszanek mlecznych. Zaczęto wprowadzać produkty dedykowane niemowlętom i małym dzieciom – posiłki ready to eat/ready to cook, a także soki, przeciery i nektary. Przełom XX i XXI wieku był szczególnym okresem pod względem rozwoju żywności dla niemowląt i małych dzieci (Stevens i in., 2009).

Dzisiejsze podejście do samej laktacji znacznie różni się od poglądów specjalistów sprzed lat. Okres ten traktowany jest dzisiaj tak samo szczególnie jak okres ciąży. Skład mleka kobiecego jest zależny m.in. od fazy laktacji, stanu zdrowia matki oraz czynników takich jak rasa czy środowisko geograficzne (Gila-Diaz i in., 2019), które często determinują wybory żywieniowe kobiet karmiących. Skład mleka kobiecego jest uwarunkowany przede wszystkim fizjologicznie i dieta matki nie wpływa na zmiany poziomu m.in. białka, laktozy, żelaza czy magnezu, ale może mieć wpływ na stężenie witamin B6, B12, A, D, kwasu foliowego, a także selenu, jodu czy kwasu DHA (Schaefer i in., 2020). Dotychczasowy stan wiedzy na temat żywienia w okresie laktacji jest szeroko opisany w literaturze. Zmienia się wówczas zapotrzebowanie na energię oraz poszczególne składniki pokarmowe, a czynnikami wpływającymi na wydatek energetyczny są przede wszystkim intensywność i czas karmienia piersią (EFSA, 2013). Obecnie powszechnie uświadamia się kobietom, że okres laktacji, podobnie jak okres ciąży, wiąże się z koniecznością wzbogacania diety w wybrane składniki odżywcze. Noworodki oraz kobiety karmiące są

szczególnie narażone na niedobory makro- i mikrośladników oraz bardzo podatne na skutki tych niedoborów (Abe i in., 2016). Zgodnie z rekomendacjami Polskiego Towarzystwa Ginekologicznego (2014) podczas laktacji wskazana jest suplementacja kwasu DHA, witaminy D3, folianów, cynku oraz jodu. Wykazano, że składniki te należą do najbardziej deficytowych w grupie kobiet ciężarnych i karmiących. Większy nacisk kładzie się na suplementację w okresie laktacji, co pozwala na karmienie dziecka pokarmem o pełnej wartości odżywczej i zapobiega późniejszym niedoborom pokarmowym u dziecka (Borszewska-Kornacka i in., 2013). Mimo że producenci żywności starają się upodobnić skład mleka modyfikowanego do składu mleka kobiecego, dodając m.in. pro- i prebiotyki czy kwas DHA, to wyższość pokarmu naturalnego przejawia się obecnością immunoglobulin – ciał odpornościowych, które warunkują odporność dziecka na choroby wirusowe i bakteryjne, chroniąc je jednocześnie przed infekcjami. Karmienie naturalne pełni również bardzo ważną funkcję psychologiczną – wytwarza szczególną więź między matką a dzieckiem na skutek odruchu ssania i działania oksytocyny (Krol i Grossmann, 2018).

Na rozpowszechnienie karmienia piersią istotny wpływ wywiera także wzrost świadomości kobiet w wyniku rozwoju poradnictwa dotyczącego karmienia piersią podczas opieki prenatalnej. W podstawowej opiece zdrowotnej nad ciężarną i karmiącą bardzo ważne jest wsparcie lekarza ginekologa, położnej, opieka pielęgniarska i coraz częściej wsparcie psychoterapeuty (Rigotti i in., 2015). Od początku XXI wieku kładzie się większy nacisk na wsparcie kobiet w ciąży i karmiących, czemu towarzyszą działania promujące karmienie piersią (Surówka i in., 2021).

## **Wnioski**

Podejście do żywienia niemowląt zmieniło się w ciągu ostatnich 20 lat. Dawniej przyczyną niepodawania dziecku pokarmu naturalnego były czynniki socjoekonomiczne oraz demograficzne, wynikające z niższej pozycji społecznej kobiet oraz z wcześniejszego planowania macierzyństwa. Dzisiaj, kiedy coraz więcej kobiet ma pewniejszą sytuację finansową i zdobywa wykształcenie, a świadomość dotycząca żywienia niemowląt oraz opieka poporodowa się rozwijają, matki czują większą pewność i chęć podawania swojego pokarmu dzieciom. Obecnie większy nacisk kładzie się na suplementację diety matki nie tylko w okresie ciąży, ale także podczas laktacji.

**Źródło finansowania:** Katedra Towaroznawstwa i Badań Żywności, Wydział Nauki o Żywności, Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie

**Konflikt interesów:** brak

## Literatura

- Abe, S.K., Balogun, O.O., Ota, E., Takahashi, K., Mori, R. (2016). Supplementation with multiple micronutrients for breastfeeding women for improving outcomes for the mother and baby. *Cochrane Database of Systematic Reviews*, 18(2). DOI: 10.1002/14651858.CD010647.pub2
- Borszewska-Kornacka, M.K., Rachtan-Janicka, J., Wesołowska, A., Socha, P., Wielgoś, M., Żukowska-Rubik, M., Pawlus, B. (2013). Stanowisko grupy ekspertów w sprawie zaleceń żywieniowych dla kobiet w okresie laktacji. *Standardy Medyczne*, 10, 265–279.
- Buccini, G.S., Pérez-Escamilla, R., Venancio, S.I. (2015). Pacifier Use and Exclusive Breastfeeding in Brazil. *Journal of Human Lactation*, 32(3), 52–60.
- Butts, C.A., Hedderley, D.I., Herath, T.D., Paturi, G., Glyn-Jones, S., Wiens, F., Stahl, B., Gopal, P. (2018). Human milk composition and dietary intakes of breastfeeding women of different ethnicity from the Manawatu-Wanganui Region of New Zealand. *Nutrients*, 10, 1231. DOI: 10.3390/nu10091231.
- EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies (NDA). (2013). Scientific opinion on Dietary Reference Values for energy, *EFSA Journal*, 11(1), 3005.
- Gila-Díaz, A., Arribas, S.M., Algara, A., Martín-Cabrejas, M., López de Pablo, A.L., Saenz de Pipaón, M.S., Ramiro-Cortijo, D. (2019). A review of bioactive factors in human breastmilk: a Focus on prematurity. *Nutrients*, 11, 1307. DOI: 10.3390/nu11061307.
- Jeleń, K., Musiał-Morsztyn, D., Bogdał, G., Królak-Olejniak, B. (2014). Karmienie piersią na przestrzeni dziejów. Część II – aktualne inicjatywy i rekomendacje. *Pielęgniarstwo i Zdrowie Publiczne*, 4, 1, 65–68.
- Krol, K.M., Grossmann, T. (2018). Psychological effects of breastfeeding on children and mothers. *Bundesgesundheitsblatt Gesundheitsforschung Gesundheitsschutz*, 61(8), 977–985.
- Lubold, A.M. (2019). Historical-qualitative analysis of breastfeeding trends in three OECD countries. *International Breastfeeding Journal*, 14, 36.
- Mach-Tomalska, M., Fyderek, K. (2012). Żywienie niemowląt i dzieci do 3. roku życia. *Kliniczna Pediatria*, 20, 346–352.
- Martins, M.M.C., Franklin, A.K., Carvalho, O.F.C., Queiroz, R.A., Amaral, A.R.M., Faisal, C.A., Eloiza, S.P., do Carmo Castro, S.F. (2014). Determinantes do abandono do aleitamento materno exclusivo: fatores psicossociais. *Ver Saúde Pública*, 48(6), 985–994.
- Nehring-Gugulska, M. (2017). Karmienie piersią lub mlekiem kobiecym jako złoty standard w żywieniu niemowląt – część 1. *Pediatria po Dyplomie*, 10, 1–15.

- Parker, P. (2015). The historical role of women in higher education. *Administrative Issues Journal: Connecting Education, Practice, and Research*, 5(1), 3–14.
- Rekomendacje Polskiego Towarzystwa Ginekologicznego w zakresie stosowania witamin i mikroelementów u kobiet planujących ciążę, ciężarnych i karmiących (2014). *Ginekologia Polska*, 85, 395–399.
- Rigotti, R.R., Oliveira, M.I.C., Boccolini, C.S. (2015). Associação entre o uso de mamadeira e de chupeta e a ausência de amamentação no segundo semestre de vida. *Ciênc Saúde Coletiva*, 20(4), 1235–1244.
- Rollins, N.C., Bhandari, N., Hajebhoy, N., Horton, S., Lutter, C.K., Martines, J.C., Piwoz, E.G., Richter, L.M., Victoria, C.G., Lancet Breastfeeding Series Group (2016). Why invest, and what it will take to improve breastfeeding practices. *Lancet*, 387, 491–504.
- Santacruz-Salas, E., Aranda-Reneo, I., Segura-Fragoso, A., Cobo-Cuenca, A.I., Laredo-Aguilera, J.A., Carmona-Torres, J.M. (2020). Mother's expectations and factors influencing exclusive breastfeeding during the first 6 months. *International Journal of Environmental Reserach and Public Health*, 18, 77. <http://doi.org/doi:10.3390/ijerph17010077>.
- Sawiec, P., Mrukowicz, J., Książyk, J., Szajewska, H., Mikiel-Kostyra, K., Kowalewska-Kantecka, B., Nehring-Gugulska, M., Sopińska, E. (2007). Kontrowersje w pediatrii – Czy gluten należy wprowadzać do diety dziecka po ukończeniu 4. miesiąca życia, a przed ukończeniem 6. miesiąca życia? *Medycyna Praktyczna: Pediatria*, 6, 15–33.
- Schaefer, E., Demmelmair, H., Horak, J., Holdt, L., Grote, V., Maar, K., Neuhofer, C., Teupser, D., Thiel, N., Goekeler-Leopold, E., Maggini, S., Koletzko, B. (2020). Multiple micronutrients, lutein, and docosahexaenoic acid supplementation during lactation: a randomized controlled trial. *Nutrients*, 12, 3849. DOI: 10.3390/nu12123849.
- Shrivastava, S.R., Shrivastava, P.S., Ramasamy, J. (2013). Fostering the practice of rooming-in in newborn care. *Journal of Health Sciences*, 3(2), 177.
- Silska, S. (2013). Ewolucja poglądów na żywienie niemowląt w XIX i XX wieku. Poznań Rozprawa doktorska, s. 127. Pobrano z: <http://www.wbc.poznan.pl/Content/304349/index.pdf>
- Socha, J., Socha, P., Weker, H., Neuhoff-Murawska, J. (2010). Żywienie dzieci a zdrowie wczoraj, dziś i jutro. *Pediatrica Współczesna: Gastroenterologia, Hepatologia, i Żywienie Dziecka*, 12(1), 34–37.
- Stevens, E.E., Patrick, R.E., Pickler, R. (2009). A history of infant feeding. *The Journal of Perinatal Education*, 18(2), 32–39.
- Surówka, J., Humaj-Grysztar, M., Madetko, R. (2021). The midwife's role in lactation care in Poland. *Nursing Problems*, 29(1), 26–30.
- Szajewska, H., Horvath, A., Rybak, A., Socha, P. (2016). Karmienie piersią. Stanowisko Polskiego Towarzystwa Gastroenterologii, Hepatologii i Żywienia Dzieci. *Standardy Medyczne*, 13, 9–24.

- Szajewska, H., Socha, P., Horvath, A., Rybak, A., Zalewski, B.M., Nehring-Gugulska, M., Mojska, H., Czerwionka-Szaflarska, M., Gajewska, D., Helwich, E., Jackowska, T., Książyk, J., Lauterbach, R., Olczak-Kowalczyk, D., Weker, H. (2021). Zasady żywienia zdrowych niemowląt. Stanowisko Polskiego Towarzystwa Gastroenterologii, Hepatologii i Żywienia Dzieci. *Standardy Medyczne*, 18, 805–822.
- Toriyama, Á.M.T., Fujimori, E., Palombo, C.N.T., Duarte, L.S., Borge, A.L., Chofakian, C.B.N. (2017). Breastfeeding: what changed after a decade? *Revista Latino-Americana de Enfermagem*, 25, 2941.
- Trojanowska, A., Brodowicz-Król, M., Trojanowska, P. (2017). Knowledge of young women concerning the impact of natural feeding on the growth and state of health of a baby. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*, 24(3), 484–488.
- Victora, C.G., Bahl, R., Barros, A.J.D., França, G.V.A., Horton, S., Krasevec, J. (2016). Breastfeeding in the 21st century: epidemiology, mechanisms, and lifelong effect. *Lancet*, 387, 475–490.
- World Health Organisation. Breastfeeding. Pobrano 25 kwietnia 2022 z: [https://www.who.int/health-topics/breastfeeding#tab=tab\\_1](https://www.who.int/health-topics/breastfeeding#tab=tab_1)

## Changes in the perception of breastfeeding over the years

**Abstract.** Nowadays, feeding a baby with breast milk is considered to be the optimal solution to support the proper development and growth of the baby's body. It is recommended to breastfeed infants at least until the age of 6 months, and to continue feeding with complementary foods until the age of 24 months. In the 20th century, a different, more restrictive style of feeding with natural food was preferred, among other things, the psychological aspects of feeding were not taken into account, and the more common food for feeding infants was modified milk. The aim of the study was to assess the changes in views on the nutrition of infants and young children in recent years. Scientific articles on breastfeeding obtained from scientific databases were used as research material. The approach to infant nutrition has changed in the last 20 years. In the past, the reasons for not giving the baby natural food were socioeconomic and demographic factors, resulting from the lower social position of women and from earlier planning of motherhood. Today, as more and more women are financially secure, educated, and nutritional awareness of infant nutrition and postnatal care develop, mothers feel more confident and willing to feed their babies. Currently, more emphasis is placed on supplementation not only during pregnancy, but also during lactation. The 21st century is also a key moment in the development of breastfeeding prophylaxis, which prompts more and more mothers to decide on natural breastfeeding.

**Keywords:** lactation, breast milk, determining factors

# Jakość i bezpieczeństwo produktów regionalnych w opinii konsumentów

Iwona Wasielewska<sup>1</sup>✉, Agnieszka Piekara<sup>2</sup>, Małgorzata Krzywonos<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Katedra Zarządzania Procesami, Wydział Zarządzania, Uniwersytet Ekonomiczny we Wrocławiu, Wrocław

<sup>2</sup>Katedra Inżynierii Bioprocessowej, Wydział Inżynierii Produkcji, Uniwersytet Ekonomiczny we Wrocławiu, Wrocław

✉175413@student.ue.wroc.pl

**Streszczenie.** Kluczowym elementem procesu produkcyjnego jest dbałość o jak najwyższą jakość wytwarzanych produktów żywnościowych. Producenci są zobowiązani do zapewnienia bezpieczeństwa żywności, aby wyeliminować ryzyko negatywnych skutków dla zdrowia lub życia człowieka, wpłynąć na unikalność towaru oraz spełnić oczekiwania potencjalnych konsumentów. Celem artykułu jest analiza produktów regionalnych pod względem jakości i bezpieczeństwa oraz poznanie opinii i zachowań konsumentek związanych z wyborem produktów regionalnych w celu określenia motywów i częstotliwości zakupu takiego rodzaju żywności. Zastosowano metodę sondażu diagnostycznego, w której uczestniczyło 183 respondentów jednej z gmin Doliny Baryczy, słynącej z produkcji i dystrybucji tego typu żywności. Wyniki przeprowadzonych badań wskazują, że jakość jest jednym z głównych czynników wpływających na wybór żywności regionalnej. Konsumentki, którzy poszukują produktów lokalnych o wysokiej jakości, są skłonni przeznaczyć większą sumę pieniędzy na ich zakup. Okazuje się, że produkty bardziej promowane są częściej kupowane przez respondentów, a więc stwierdzono, że świadomość unikatowości tego rodzaju żywności rośnie wraz z rozpowszechnianiem wiedzy na temat bezpiecznej żywności.

**Słowa kluczowe:** jakość żywności, produkt regionalny, Dolina Baryczy, zachowania konsumentów

## Wprowadzenie

Produkt regionalny to wyrób, który wyróżnia się charakterystycznymi cechami. Określany jest jako żywność unikatowa o wysokiej jakości, stąd często związany z wyższą ceną. Ten rodzaj żywności kierowany jest do konsumentów o wyższych dochodach, ale i do tych, którzy kupują produkty okazjonalnie (Grębowiec, 2020).



W ramach identyfikowania produktów regionalnych jako towarów wysoko-jakościowych przypisuje się tej żywności szczególne cechy. Konsument skupia się na dwóch najważniejszych aspektach: jakości oraz bezpieczeństwie. Gdy produkt spełnia kryteria wskazujące na nieprzeciętność i wyjątkowość, nabywca odczuwa satysfakcję. W związku ze spożywaniem wyrobu konsument oczekuje, że nie poniesie żadnych konsekwencji zdrowotnych, dlatego to bezpieczeństwo jest jednym z najważniejszych elementów produkcji żywności (Baryłko-Pikielna, 1995).

W kategorii użytkowej jakość można zdefiniować jako „przydatność do użytku”. Określa się ją także jako niezbędne wymagania do zaspokojenia potrzeb i oczekiwań konsumenta. Są to przede wszystkim wymagania związane z bezpieczeństwem, a więc brak czynników ryzyka, które eliminują zagrożenie dla życia konsumenta i w razie zaistnienia podlegają karze. Oprócz tego wymagania towarowe, które dostarczają informacji o zgodności towaru z jego definicją, a więc wykluczenie produktów zafałszowanych. Następnie wymagania żywieniowe, których spełnienie powoduje, że produkt będzie zdrowy i nie będzie oddziaływał niekorzystnie na organizm człowieka (tzw. żywność funkcjonalna). Tuż przy nich stoją cechy sensoryczne, etyczne czy tradycja i pochodzenie, które wskazują na atrakcyjność produktu. Wymagania gwarancyjne, a więc wszelkie systemy oznaczeń w Polsce czy Unii Europejskiej stanowią najważniejszą metodę gwarancji produktu regionalnego (Peri, 2006).

**Kontrola i ochrona jakości produktów regionalnych.** Proces kontroli zarządzania bezpieczeństwem i jakością żywności w przemyśle spożywczym dzieli się na wewnętrzny, gdzie przedsiębiorstwo wdraża systemy obligatoryjne Dobra Praktyka Produkcyjna (GMP), Dobra Praktyka Higieniczna (GHP), System Analizy Zagrożeń i Krytycznych Punktów Kontroli (HACCP) i/lub nieobligatoryjne (normy ISO) oraz zewnętrzne, które wynikają z powołanych organów, niezależnych od producenta (ryc. 1).

Dobra Praktyka Produkcyjna to odpowiednie działania i warunki na wszystkich etapach produkcyjnych, aby wyrób danej żywności odbywał się z zachowaniem bezpieczeństwa i jakości produktu, zaś Dobra Praktyka Higieniczna to działania i warunki higieniczne, które przedsiębiorstwo musi spełniać, aby zapewnić bezpieczeństwo żywności (Morkis, 2006).

System Analizy Zagrożeń i Krytycznych Punktów Kontroli skupia się na całym procesie produkcyjnym, identyfikując i szacując skalę zagrożeń. Za pomocą Krytycznych Punktów Kontroli określa się miejsca szczególnie narażone na wystąpienie zagrożenia (Morkis, 2006).

Kontrola wewnętrzna	Kontrola zewnętrzna
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Dobra Praktyka Produkcyjna</li> <li>• Dobra Praktyka Higieniczna</li> <li>• System Analizy Zagrożeń i Krytycznych Punktów Kontroli</li> <li>• Normy ISO</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Państwowa Inspekcja Sanitarna</li> <li>• Inspekcja Jakości Handlowej Artykułów Rolno-Spożywczych</li> <li>• Państwowa Inspekcja Ochrony Roślin i Nasiennictwa</li> <li>• Inspekcja Handlowa</li> </ul>

**Ryc. 1.** System kontroli bezpieczeństwa i ochrony jakości  
Źródło: opracowanie własne na podstawie Śmiechowska (2013).

**Fig. 1.** Safety control and quality protection system  
Source: own work based on Śmiechowska (2013).

Zastosowanie nieobligatoryjnych systemów norm ISO pozwala przedsiębiorstwu podnieść poziom jakości produkowanej żywności, zdobyć zaufanie klientów, a także umocnić pozycję na rynku (Morkis, 2014).

Podstawowym organem państwowym powołanym do kontroli producentów żywności jest Państwowa Inspekcja Sanitarna (PIS), której rolą jest kontrola przestrzegania przepisów związanych z warunkami produkcji, transportu, magazynowania oraz sprzedaży produktów pochodzenia zwierzęcego i niezwierzęcego. Inspekcja Weterynaryjna – w odróżnieniu od PIS – zajmuje się tylko produktami pochodzenia zwierzęcego. Do jej zadań należy ochrona zdrowia zwierząt oraz bezpieczeństwa tego typu żywności. W celu odpowiedniego przechowywania oraz transportu zapewniającego jakość artykułów rolno-spożywczych kontroluje Inspekcja Jakości Handlowej Artykułów Rolno-Spożywczych. Organem, który zajmuje się ochroną produktów związanych ze stosowaniem środków ochrony roślin, jest Państwowa Inspekcja Ochrony Roślin i Nasiennictwa. Nad prawami i interesem konsumenta czuwa Inspekcja Handlowa (Wojciechowski, 2014).

**System oznaczeń produktów regionalnych.** W Polsce utworzono krajową Listę Produktów Tradycyjnych (LPT) dla producentów produktów, których wyjątkowe cechy oraz jakość wynikają z tradycyjnych metod produkcji wykorzystywanych od co najmniej 25 lat. LPT powstała z inicjatywy Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi w 2005 roku (Grębowiec, 2010).

Kolejny system jakości żywności to Jakość Tradycja. Tym znakiem oznaczane są produkty żywnościowe o wysokiej jakości, które odznaczają się tradycyjnym charakterem. Znak Jakość Tradycja (ryc. 2) jest gwarancją unikatowych cech, a więc producenci poddawani są okresowej kontroli jakości (PCBC, 2022).



**Ryc. 2.** Symbol graficzny Jakość Tradycja  
Źródło: PCBC, 2022.

**Fig. 2.** The graphic symbol Quality Tradition  
Source: PCBC, 2022.



**Ryc. 3.** Znak Dolina Baryczy Poleca  
Źródło: Dolina Baryczy Poleca, 2022a.

**Fig. 3.** Graphic symbol Dolina Baryczy Poleca  
Source: Dolina Baryczy Poleca, 2022a.

W 2008 roku w ramach zrównoważonego rozwoju Doliny Baryczy (woj. dolnośląskie) powstał program Dolina Baryczy Poleca. Obszar ten słynie z lokalnych producentów, którzy zajmują się produkcją produktów regionalnych. Celem programu jest wsparcie sprzedaży wyrobów lokalnych oraz zapewnienie konsumentów o unikatowości i wysokiej jakości produktów. Dołączenie do programu jest możliwe pod warunkiem, że osoby fizyczne lub podmioty zamieszkują bądź posiadają siedzibę na obszarze Doliny Baryczy. Ponadto produkty powinny wyróżniać się tradycyjnością, naturalnością, przyjaznością dla środowiska oraz silnym związkiem z regionem. Uczestnictwo w programie nagradzane jest znakiem Dolina Baryczy Poleca (ryc. 3), umieszczanym na etykiecie produktów regionalnych (Dolina Baryczy Poleca, 2021a).

Na szczeblu europejskim wyróżniamy system rejestracji i ochrony produktów regionalnych, który ma na celu zapobiec oszustwom wobec konsumenta i być gwarancją autentyczności oraz wysokiej jakości. Na rycinie 4 przedstawiono symbole: Chroniona Nazwa Pochodzenia (ChNP), Chronione Oznaczenie Geograficzne (ChOG), Gwarantowana Tradycyjna Specjalność (GTS), które umieszcza się na etykiecie chronionego produktu obok towarzyszącej im zarejestrowanej nazwy (Grębowiec, 2010).

Rejestracja produktów ze znakiem „Chronionej Nazwy Pochodzenia” oznacza, że dany wyrób jest wytwarzany w konkretnym miejscu geograficznym. W związku z tym cały proces produkcyjny wyrobu żywnościowego odbywa się w ściśle określonym regionie. Oznaczenie dotyczy produktów żywnościowych, produktów rolnych oraz win. W Polsce pierwszym zarejestrowanym



**Ryc. 4.** Symbole graficzne ChNP, ChOG, GTS  
Źródło: Komisja Europejska, 2022.

**Fig. 4.** Graphic symbols of PDO, PGI, TSG  
Source: European Commission, 2022.

tradycyjnym produktem jest „Bryndza Podhalańska”, czyli ser owczy w całości wytwarzany na Podhalu (Komisja Europejska, 2022; Tetwejer, 2019).

„Chronione Oznaczenie Geograficzne” dotyczy produktów związanych z konkretnym regionem geograficznym. W odróżnieniu od ChNP wystarczy, aby jeden z etapów produkcji odbywał się w danym regionie. Oznaczenie dotyczy produktów żywnościowych, produktów rolnych oraz win. Przykładem są „Andruty kaliskie” produkowane w Kaliszu (Komisja Europejska, 2022).

„Gwarantowana Tradycyjna Specjalność” określa produkty, które wyróżniają się tradycyjnymi surowcami, składem bądź sposobem przetwarzania lub produkcji. Samo wytwarzanie nie jest powiązane z danym regionem. Oznaczenie dotyczy produktów żywnościowych oraz produktów rolnych. O rejestrację produktu tradycyjnego mogą starać się producenci wyrobu będącego w obiegu co najmniej 30 lat. Przykładem jest „Dwójniak Staropolski Tradycyjny” miód pitny (Dąbrowska, 2018; Komisja Europejska, 2022).

Produkty z omawianymi wyżej oznaczeniami wzbudzają większe zaufanie u konsumentów oraz są atrakcyjniejsze ze względu na gwarancję jakości, wyjątkowych cech czy unikatowości. Nabywca jest świadomy, że kupuje produkt regionalny, a więc wyróżniający się także wyższą ceną (Chudy i Gierałtowska, 2013).

Celem przeprowadzonych badań było poznanie potrzeb oraz preferencji konsumentów, którzy wybierają produkty regionalne. Poszukiwano odpowiedzi na pytanie, co skłania nabywców do zakupu takiego rodzaju żywności oraz jakie znaczenie ma cena produktu. W pracy przeanalizowano także dostępny asortyment lokalnych producentów, którzy w 2022 roku posiadali certyfikat „Dolina Baryczy Poleca”.

## Materialy i metody

Badania potrzeb oraz preferencji konsumentów, którzy wybierają produkty regionalne, zostały zrealizowane metodą CAWI (Computer Assited Web Interview). Wcześniej jednak przeprowadzono badanie pilotażowe 10 osób w celu wyeliminowania pytań niejasnych dla respondentów. Ankiety udostępniono 23 marca 2021 r. na okres sześciu miesięcy. Próbę badaną stanowili mieszkańcy gminy Twardogóra (woj. dolnośląskie), która należy do regionu Doliny Baryczy. Zgodnie z wyliczeniami minimalnej liczby osób w próbie przy użyciu kalkulatora doboru prób [<https://www.naukowiec.org/dobor.html>] liczba osób w badaniu powinna wynosić 371 – przy założeniu, że wielkość populacji wynosiła 10 931 (GUS, 2021), poziom ufności 95%, błąd maksymalny 5%, wielkość frakcji 0,5. W badaniu wzięło udział 183 mieszkańców. Wyniki analizowano przy użyciu programu PQStat v.1.8.2 oraz Microsoft Office Excel 2010. W analizie zastosowano metodę statystyki opisowej: medianę, test chi-kwadrat Pearsona, zależność monotoniczną Spearmana oraz Kendalla.

Do analizy oferowanego asortymentu przez producentów produktów regionalnych oznaczonych Znakiem „Dolina Baryczy Poleca” w 2022 roku wykorzystano bazę produktów i usług dostępnych na stronie internetowej dbpoleca.pl.

## Wyniki

W badaniu wzięły udział 183 osoby, 56% kobiet i 44% mężczyzn. Wśród grupy ankietowej 36% stanowiły osoby w wieku 20–29 lat. Z tego 11% respondentów należało do grupy wiekowej 15–19 lat, 17% do grupy 30–39 lat, 16% do grupy 40–49 lat, a 20% miało powyżej 50 lat. Prawie połowa badanych (44%) deklarowała wykształcenie średnie, a 33% wykształcenie wyższe. Mniej liczną grupę (17%) stanowiły osoby z wykształceniem zawodowym, a najmniej liczną (7%) osoby o wykształceniu podstawowym. Z punktu widzenia miejsca zamieszkania ponad połowa respondentów (52%) była mieszkańcami wsi, a 48% miasta.

**Motywy zakupu produktu regionalnego.** Najczęstszymi motywami zakupu produktu regionalnego (tab. 1), gdzie respondenci deklarowali odpowiedź „tak” bądź „zdecydowanie tak”, okazały się: smakowitość (88%), świeżość (88%), jakość (85%) oraz skład produktu (81%). Dla konsumentów mniej ważna jest cena (65%) czy certyfikaty (51%). Po wyliczeniu mediany (Me) odrzucono

**Tabela 1.** Motywy zakupu produktu regionalnego**Table 1.** Motivations for purchasing a regional product

Motyw zakupu	1	2	3	4	5
Pochodzenie produktu	7%	9%	22%	28%	34%
<b>Jakość</b>	<b>0%</b>	<b>4%</b>	<b>11%</b>	<b>22%</b>	<b>63%</b>
Opakowanie	9%	17%	31%	26%	17%
<b>Skład produktu</b>	<b>3%</b>	<b>4%</b>	<b>11%</b>	<b>31%</b>	<b>50%</b>
Cena	4%	10%	20%	32%	33%
<b>Świeżość</b>	<b>0%</b>	<b>3%</b>	<b>9%</b>	<b>20%</b>	<b>68%</b>
<b>Smakowitość</b>	<b>1%</b>	<b>1%</b>	<b>11%</b>	<b>20%</b>	<b>68%</b>
Bezpieczeństwo środowiska	11%	10%	17%	32%	30%
Zdrowotność	3%	5%	17%	33%	42%
Wsparcie producentów	10%	8%	19%	26%	37%
Certyfikaty	10%	13%	26%	27%	24%

1 – zdecydowanie nie, 2 – nie, 3 – nie wiem, 4 – tak, 5 – zdecydowanie tak.

1 – definitely not, 2 – no, 3 – I don't know, 4 – yes, 5 – definitely yes.

jeden z czynników, jakim jest opakowanie ( $Me = 3$ ). W dalszej analizie zbadano występowanie zależności za pomocą testu  $\chi^2$  Pearsona (tab. 2), gdzie współczynnik korelacji ( $\chi^2_{0,05}$ ) = 0,8114, liczba swobody ( $df$ ) = 4, a poziom istotności ( $\alpha$ ) = 0,05. Wartości, gdzie prawdopodobieństwo ( $p$ ) wynosiło poniżej 0,05, świadczą o występowaniu zależności. Okazuje się, że płeć respondentów była statystycznie istotna ze względu na takie motywy zakupu jak: jakość, skład produktu, świeżość oraz zdrowotność. W przypadku miejsca zamieszkania istotna okazała się zdrowotność (tab. 2).

Do analizy zależności wykształcenia oraz wieku wykorzystano test Kendalla i Spearmana (tab. 3). Wyniki badań wskazują, że wraz z wyższym wykształceniem znaczenie jakości, bezpieczeństwa dla środowiska, zdrowotności, wsparcia lokalnych producentów oraz składu produktu wzrasta. Jak można zauważyć, pochodzenie produktu korelowało z wykształceniem i wiekiem respondentów, a więc dla bardziej wykształconych i starszych osób czynnik ten nabierał większego znaczenia.

**Tabela 2.** Zależność motywu zakupu produktu regionalnego od płci i miejsca zamieszkania  
**Table 2.** Dependence of the motive for purchasing a regional product on gender and place of residence

Statystyka chi-kwadrat Pearsona	Płeć		Miejsce zamieszkania	
	p	$\chi^2$	p	$\chi^2$
Analizowane zmienne				
Pochodzenie produktu	0,33	4,611	0,814	1,569
<b>Jakość</b>	<b>0,008</b>	11,946	0,529	2,216
<b>Skład produktu</b>	<b>&lt;0,001</b>	23,978	0,43	3,826
Cena	0,24	5,498	0,211	5,839
<b>Świeżość</b>	<b>&lt;0,001</b>	18,515	0,439	2,71
Smakowitość	0,279	5,083	0,784	1,735
Bezpieczeństwo środowiska	0,874	1,227	0,933	0,843
<b>Zdrowotność</b>	<b>0,006</b>	14,622	<b>0,029</b>	10,811
Wsparcie producentów	0,094	7,934	0,694	2,225
Certyfikaty	0,091	8,016	0,422	3,882

$p$  – prawdopodobieństwo,  $\chi^2$  – obliczony współczynnik korelacji.

$p$  – probability,  $\chi^2$  – calculated correlation coefficient.

**Tabela 3.** Zależność motywu zakupu produktu regionalnego od wieku i wykształcenia  
**Table 3.** Motives for purchasing a regional product/age and education

Analizowane zmienne	Test Spearmana				Test Kendalla			
	wiek		wykształcenie		wiek		wykształcenie	
	$r$	$p$	$r$	$p$	$\tau$	$p$	$\tau$	$P$
1	2	3	4	5	6	7	8	9
Pochodzenie produktu	0,291	<b>&lt;0,001</b>	0,398	<b>&lt;0,001</b>	0,244	<b>&lt;0,001</b>	0,345	<b>&lt;0,001</b>
Jakość	-0,06	0,421	0,155	<b>0,036</b>	-0,054	0,282	0,142	<b>0,004</b>
Skład produktu	0,094	0,203	0,242	<b>0,001</b>	0,083	0,097	0,219	<b>&lt;0,001</b>
Cena	-0,031	0,68	-0,106	0,155	-0,027	0,585	-0,089	0,073

Tabela 2 – cd. / Table 2 – cont.

1	2	3	4	5	6	7	8	9
Świeżość	0,083	0,265	0,119	0,108	0,072	0,145	0,108	<b>0,03</b>
Smakowitość	0,031	0,68	0,043	0,564	0,026	0,608	0,039	0,428
Bezpieczeństwo środowiska	0,224	<b>0,002</b>	0,211	<b>0,004</b>	0,19	<b>&lt;0,001</b>	0,181	<b>&lt;0,001</b>
Zdrowotność	0,238	<b>0,001</b>	0,301	<b>&lt;0,001</b>	0,203	<b>&lt;0,001</b>	0,265	<b>&lt;0,001</b>
Wsparcie producentów	0,199	<b>0,007</b>	0,264	<b>&lt;0,001</b>	0,164	<b>0,001</b>	0,227	<b>&lt;0,001</b>
Certyfikaty	0,089	0,23	0,038	0,613	0,074	0,138	0,032	0,519

$\alpha = 0,05$ .

**Stosunek respondentów do ceny produktów regionalnych.** W podejmowaniu decyzji konsumenckich kluczową rolę odgrywa cena, a więc zbadano skłonność respondentów do wydania większej sumy na produkt regionalny. Ponad połowa badanych (59%) zadeklarowała chęć przeznaczenia większej kwoty na zakup tego typu żywności. Według analizy, przy użyciu testu Kendalla i Spearmana (tab. 4) występowała monotoniczna korelacja dodatnia między wiekiem i wykształceniem a skłonnością do wydania większej sumy na zakup produktu lokalnego. Wraz z wiekiem i wyższym wykształceniem wzrastała chęć przeznaczenia większej kwoty.

**Tabela 4.** Skłonność do wydania większej sumy przez respondentów a wiek i wykształcenie  
**Table 4.** Respondents' inclination to spend more/age and education

Test Spearmana				Test Kendalla			
wykształcenie		wiek		wykształcenie		wiek	
<i>r</i>	<i>p</i>	<i>r</i>	<i>P</i>	<i>tau</i>	<i>p</i>	<i>tau</i>	<i>p</i>
0,334	<b>&lt;0,001</b>	0,269	<b>&lt;0,001</b>	0,288	<b>&lt;0,001</b>	0,224	<b>&lt;0,001</b>

Zbadano także, ile miesięcznie respondenci są w stanie wydać na zakup produktu regionalnego. Przedział, który deklarowano najczęściej (42%), to 101–250 zł, 21% to przedział 251–500 zł, 7% przedział 501–750 zł. Zaledwie 3% osób z tej grupy zadeklarowało najwyższy przedział 751–1000 zł, a już 21% – najmniejszy, tj. mniej niż 100 zł (tab. 5).



**Tabela 5.** Skłonność do wydania większej sumy przez respondentów a wiek i wykształcenie  
**Table 5.** The respondents' tendency to spend more/age and education

Suma	>100	101–250	251–500	501–750	751–1000
Liczność	27%	42%	21%	7%	3%

Mimo poprzednich deklaracji chęci wydania większej kwoty przez respondentów poniższe wyniki wskazują, że najczęściej wybierany przedział ceny nie jest wysoki. Według testu Spearmana i Kendalla (tab. 6) potwierdza się, że to osoby starsze i bardziej wykształcone są skłonne wydać większą sumę pieniędzy na zakup produktu regionalnego. Wraz z wiekiem i poziomem wykształcenia rośnie skłonność do wydatków miesięcznych na produkty regionalne.

**Tabela 6.** Kwota miesięcznego wydatku na produkt regionalny a wykształcenie i wiek  
**Table 6.** The amount of monthly expenditure on a regional product/education and age

Test Spearmana				Test Kendalla			
wykształcenie		wiek		wykształcenie		wiek	
<i>R</i>	<i>p</i>	<i>r</i>	<i>p</i>	<i>tau</i>	<i>p</i>	<i>tau</i>	<i>p</i>
0,122	0,101	0,248	<b>0,001</b>	0,105	<b>0,034</b>	0,206	<b>&lt;0,001</b>

Skupiono się również na tym, jakie czynniki mają wpływ na postrzeganie ceny przez konsumenta. Odrzucono ilość, sentyment, opakowanie ze względu na  $Me = 3$ . Najważniejszym motywem okazała się jakość (89%). Przeprowadzono test chi-kwadrat Pearsona oraz Spearmana i Kendalla, które potwierdziły, że wiek, wykształcenie, płeć oraz miejsce zamieszkania nie mają wpływu na wybór czynnika, tj. jakości. W przypadku Kendalla zauważalna jest bardzo słaba zależność wyboru jakości względem wykształcenia. Mimo  $Me = 3$  w przypadku certyfikatów sprawdzono, jak bardzo wpływają one na decyzje konsumenckie. Okazuje się, że 48% badanych zadeklarowało, że mają one znaczenie względem ceny.

W pytaniu otwartym zapytano respondentów o inne czynniki, które skłaniają ich do nabywania produktów o wyższej cenie. Badani wskazywali: cechy sensoryczne produktu, rekomendacje innych, ale także powoływali się na historię firmy, tradycyjność czy pochodzenie. Czynnikiem decydującym okazała się również zdrowotność oraz skład produktu.

### Stopień wiedzy respondentów na temat programu Dolina Baryczy Poleca.

Sposobem zbadania świadomości respondentów na temat oznaczeń produktów regionalnych było wykorzystanie programu Dolina Baryczy Poleca, który funkcjonuje na obszarze gminy Twardogóra i wyróżnia się wspomnianym znakiem.

Zaledwie 40% ankietowanych słyszało o programie, a 25% zadeklarowało, że zna założenia. Test chi-kwadrat Pearsona nie wskazał zależności między znajomością założeń programu a płcią i miejscem zamieszkania. Okazuje się, że osoby starsze i bardziej wykształcone miały większą wiedzę na temat certyfikatu, na co wskazuje analiza Spearmana i Kendalla (tab. 7). Tylko 35% ankietowanych odpowiedziało, że „często” bądź „zawsze” zwraca uwagę na certyfikat „Dolina Baryczy Poleca”.

**Tabela 7.** Znajomość programu Dolina Baryczy Poleca a wykształcenie i wiek

**Table 7.** Knowledge of the Barycz Valley program/education and age

Test Spearmana				Test Kendalla			
wykształcenie		wiek		wykształcenie		wiek	
r	p	r	p	r	p	r	p
0,293	<0,001	0,261	<0,001	0,245	<0,001	0,218	<0,001

**Produkty certyfikowane symbolem „Dolina Baryczy Poleca”.** W 2022 roku według aktualnej bazy producentów z Doliny Baryczy 19 produktów zostało wyróżnionych znakiem „Dolina Baryczy Poleca” (tab. 8). Asortyment oferowanych produktów jest szeroki, na co wskazują różne kategorie żywności. Wyróżnienie certyfikatem daje konsumentowi gwarancję wysokiej jakości produktu regionalnego oferowanego przez producentów.

**Tabela 8.** Produkty regionalne certyfikowane Znakiem „Dolina Baryczy Poleca”

**Table 8.** Regional products certified „Dolina Baryczy Poleca”

Rodzaj żywności	Producent	Oferowany produkt
1	2	3
Napoje	Winnica Anna, Przerwa Dariusz	Wino gronowe i cydr
	Gospodarstwo Sadownicze Pochodyła	Naturalne soki owocowe
	Gospodarstwo Sadownicze Dziekan	100% naturalne soki

**Tabela 8 – cd. / Table 8 – cont.**

1	2	3
Ryby	Gospodarstwo Rybackie Możdżanów	Karp
	Gospodarstwo Rybackie Ruda Żmigrodzka	Karp
	Gospodarstwo Rybackie Stawczyk	Karp
	Stawy Milickie SA	Karp
Warzywa	Ogrodnictwo Skowroński	Pomidory
	Gospodarstwo Rolne M. Sznajder	Kiszone warzywa i soki
Owoce	Gospodarstwo Sadownicze Pochodyła	Jabłka
	Gospodarstwo Sadownicze Dziekan	Jabłka
Oleje	„Oleje z Doliny” Magdalena Dwornikowska	Oleje tłoczone na zimno
Pieczywo	Piekarnia GS Przygodzice	Chleb Baryczok
	Rzemieślnicza Piekarnia Edwarda Rybki	Chleb Komyśniak
	Piekarnia Familijna	Chleb żytnio-orkiszowy
Miody	Gospodarstwo Pasieczne Gucio	Miody i produkty pszczele
Przetwory	Gospodarstwo Sadownicze Wiesław Romańczyk	Przetwory owocowe
	Z Chaty Łaniaków, Irena i Andrzej Łaniak	Przetwory owocowe
	Oleowita	Przetwory z ziaren i orzechów

Źródło: opracowanie własne na podstawie Dolina Baryczy Poleca (2022b).

Source: own research based on Dolina Baryczy Poleca (2022b).

## Dyskusja

Na podstawie badań własnych stwierdzono, że istotnym czynnikiem w wyborze produktów regionalnych przez mieszkańców gminy Twardogóra są: smak, jakość i skład produktu (ponad 80%). Według badań Żakowskiej-Biemans i Kuc (2009; N = 150) najważniejszym czynnikiem są także walory smakowe oraz jakość. Badania Dąbrowskiej (2018; N = 506) sugerują, że konsumenci są świadomi wysokiej jakości, dobrego smaku oraz „zdrowotności” produktów regionalnych.

Badania własne wskazują, że mniej ważna na tle innych czynników okazała się cena (65%), która jest znacznie wyższa od ceny przeciętnych produktów żywnościowych. Z badań Grębowca (2017) (N = 360) oraz Żakowskiej-Biemans i Kuc (2009) wynika, że niższa cena skłoniłaby konsumentów do częstszego nabywania produktów regionalnych. Wysoka cena uznana została za główną barierę zakupu. W badaniach własnych zauważono, że konsumenci mimo deklaracji o możliwości wydania większej sumy na produkt wysokiej jakości (59%) nie przeznaczają dużych sum na ich zakup. Najczęstszy miesięczny wydatek kształtuje się w przedziale 101–250 zł. Przyglądając się badaniom przeprowadzonym wśród grupy studentów (Szczecin, N = 680), ponad połowa nie jest skłonna zapłacić wyższej ceny (Chudy i Gierałtowska, 2013). Potwierdzono w badaniach własnych, że osoby starsze i bardziej wykształcone są skłonne wydać większą sumę pieniędzy na zakup produktu regionalnego ze względu na większy dochód. Według badań Dąbrowskiej (2018) konsumenci są świadomi, że wyroby lokalne są produktami droższymi ze względu na ich jakość. Cena jest barierą zakupu, ale badani uznali, że w określonych sytuacjach (święta, uroczystości rodzinne) warto zapłacić więcej za produkt.

Przytoczone wyniki Grębowca (2017) pozwalają sądzić, że certyfikaty dla 7% nabywców nie stanowią ważnej cechy, co przekłada się również na badania własne, w których zauważono, że jest to jedna z mniej ważnych cech produktu. Niewiedza związana ze znaczeniem certyfikatów oraz znajomością żywności określanej jako produkt regionalny wpływa na mniejszą częstotliwość zakupów oraz mniejszą akceptację wyższych cen. Konsumenci nie potrafią przyporządkować oznaczeń produktów regionalnych do znaku graficznego, dlatego nie zwracają na nie uwagi. Nie potrafią także odróżnić żywności regionalnej i tradycyjnej od innych produktów żywnościowych (Grębowiec, 2017; Żakowska-Biemans i Kuc, 2009). Ponadto Chudy i Gierałtowska (2013) zauważyli, że jedynie 1% studentów deklarowało, że widziało oznaczenia żywności tradycyjnej i regionalnej. Odwołując się do badań przeprowadzonych w 2013 roku wśród grupy studentów, wiedza na temat europejskich znaczeń żywności tradycyjnej i regionalnej była znikoma. Potwierdza to, że wiedza na temat tego typu rodzaju żywności jest powszechniejsza u starszych osób (Chudy i Gierałtowska, 2013). W badaniach własnych zauważono, że certyfikat Dolina Baryczy Poleca nie jest powszechnie znany, mimo że stanowi gwarancję jakości produktu, a świadomość wzrasta wraz z wiekiem konsumentów i ich poziomem wykształcenia.

## Wnioski

1. Konsumenty w bardzo dużym stopniu zwracają uwagę na smak, świeżość, jakość oraz skład produktu. Osoby starsze, które identyfikują się z danym regionem, zazwyczaj ze swoim miejscem zamieszkania, uważają, że ważne jest także pochodzenie produktu.
2. Cena produktu regionalnego stanowi dużą barierę zakupową, dlatego nie są one rozpowszechnione wśród wszystkich grup odbiorców. Bardziej świadomymi nabywcami są osoby starsze oraz bardziej wykształcone, które są bardziej skłonne wydać większą sumę pieniędzy na produkt regionalny, rozumiejąc, że wraz ze wzrostem wartości produktu rośnie również jego cena.
3. Certyfikat jako gwarancja jakości okazuje się mniej ważnym motywem zakupu, co wynika najczęściej z niewiedzy konsumenta. W przypadku mieszkańców gminy Twardogóra program Dolina Baryczy Poleca jest mało znany, a więc konsumenci nie zwracają uwagi na certyfikat.
4. Producenci z Doliny Baryczy oferują szeroki asortyment, który pozwoli wpisać się w potrzeby konsumentów. W celu pozyskania młodszej grupy odbiorców warto zastosować edukację w zakresie certyfikatów produktów regionalnych, a w szczególności znaku Dolina Baryczy Poleca, który funkcjonuje na obszarze wytwarzania i dystrybucji wyrobów lokalnych.
5. Efektywne rozpowszechnienie wiedzy o zrównoważonej produkcji produktów regionalnych oraz znaczeniu wybranych certyfikatów mogłoby przyciągnąć większą grupę odbiorców podążających za nurtem naturalnej żywności, która będzie skłonna przekazać większą sumę na zakup tego typu wyrobów.

**Źródło finansowania:** autorzy nie deklarują żadnego zewnętrznego źródła finansowania

**Konflikt interesów:** brak

## Literatura

- Baryłko-Pikielna, N. (1995). Konsument a jakość żywności. *Żywność. Technologia. Jakość*, 4(5), 3–10.
- Chudy, S., Gierałtowska, U. (2013). Produkty tradycyjne i regionalne z perspektywy szczecińskich studentów. *Journal of Agribusiness and Rural Development*, 1(27), 45–52.

- Dąbrowska, A. (2018). Zachowania konsumentów na rynku żywnościowych produktów tradycyjnych i regionalnych. Wyzwania dla marketingu. *Handel Wewnętrzny*, 374(3), 106–117.
- Dolina Baryczy Poleca (2022a). Program „Dolina Baryczy Poleca”. Pobrano 20 kwietnia 2022 z: <http://dbpoleca.barycz.pl/regionalny-system-promocji-dolina-baryczy-poleca-37#scroll-to>
- Dolina Baryczy Poleca (2022b). Asortyment produktów regionalnych. Pobrano 20 kwietnia 2022 z: <http://dbpoleca.barycz.pl/editions/view/15>
- Grębowiec, M. (2010). Rola produktów tradycyjnych i regionalnych w podejmowaniu decyzji nabywczych przez konsumentów na rynku dóbr żywnościowych w Polsce. *Zeszyty Naukowe SGGW. Problemy Rolnictwa Światowego*, 10(25), 22–31.
- Grębowiec, M. (2017). Produkty regionalne i tradycyjne jako element budowania konkurencyjnej oferty produktów żywnościowych w Polsce i innych krajach Europy. *Zeszyty Naukowe SGGW w Warszawie. Problemy Rolnictwa Światowego*, 17(32), 65–80.
- GUS (2021). Ludność gminy Twardogóra. Pobrano 14 lutego 2021 z: <https://stat.gov.pl/obszary-tematyczne/ludnosc/ludnosc/ludnosc-stan-i-struktura-ludnosci-oraz-ruch-naturalny-w-przekroju-terytorialnym-stan-w-dniu-31-12-2020,6,29.html>
- Komisja Europejska (2022). Systemy jakości. Pobrano 20 kwietnia 2022 z: [http://ec.europa.eu/info/food-farming-fisheries/food-safety-and-quality/certification/quality-labels/quality-schemes-explained\\_pl](http://ec.europa.eu/info/food-farming-fisheries/food-safety-and-quality/certification/quality-labels/quality-schemes-explained_pl)
- Morkis, G. (2006). Stopień wdrożenia GHP, GMP i HACCP w przemyśle spożywczym. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 3(48), 129–135.
- Morkis, G. (2014) Systemy zarządzania bezpieczeństwem i jakością żywności w przemyśle spożywczym w Polsce. *Roczniki Naukowe Stowarzyszenia Ekonomistów Rolnictwa i Agrobiznesu*, 16(6), 366–370.
- Naukowiec (2021). Kalkulator doboru prób. Pobrano 20 kwietnia 2022: <https://www.naukowiec.org/dobor.html>
- PCBC (2022). Znak Jakość Tradycja. Pobrano 19 kwietnia 2020 z: <https://www.pcbc.gov.pl/pl/uslugi/certyfikacja-wyrobow/wyroby-spozywcze/znak-jakosc-tradycja>
- Peri, C. (2006). The universe of food quality. *Food Quality and Preference*, 17(1–2), 3–8.
- Sznajder, M. (2022). Kiszzone warzywa i soki. Pobrano 20 kwietnia 2022: <https://www.sznajder.agro.pl/>
- Śmiechowska, M. (2013). Autentyczność jako kryterium zapewnienia jakości żywności. *Annales Academiae Medicae Gedanensis*, 43, 175–181.
- Tetwejer, U. (2009). System ochrony produktów tradycyjnych i regionalnych w Polsce oraz Unii Europejskiej. *Stowarzyszenie Ekonomistów Rolnictwa i Agrobiznesu. Roczniki Naukowe*, 11(5), 320–324.
- Wojciechowski, P. (2014). Organy urzędowej kontroli żywności w Polsce. *Kontrola Państwowa*, 1(354), 49–65.
- Żakowska-Biemans, S., Kuc, K. (2009). Żywność tradycyjna i regionalna w opinii i zachowaniach polskich konsumentów. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 3(64), 105–114.

## Quality and safety of regional products in the opinion of consumers

**Abstract.** The key element of the production process is the care for the highest quality of manufactured food products. Producers are obliged to ensure food safety to eliminate the risk of negative effects on human health or life, affect the uniqueness of the product and meet the expectations of potential consumers. The aim of the article is to analyze regional products in terms of quality and safety, and to examine the extent to which consumers pay attention to high quality products, and to learn and analyze consumer opinions and behaviors related to the selection of regional products in order to determine the motives and frequency of purchasing this type of food. The method of diagnostic survey was used, in which 183 respondents participated in one of the communes of the Barycz Valley, famous for the production and distribution of this type of food. The results of the conducted research indicate that quality is one of the main factors influencing the selection of regional food. Consumers of local products, aware of high quality, are willing to spend more money on their purchase. It turns out that more promoted products are more often bought by respondents, so it was found that the awareness of the uniqueness of this type of food increases with the dissemination of knowledge about safe food.

**Keywords:** food quality, regional product, Barycz Valley, consumer behavior

# Produkty z pogranicza w obrocie aptecznym – perspektywa farmaceutów

Agnieszka Piekara✉, Julia Grzelak

Katedra Inżynierii Bioprosesowej, Wydział Inżynierii Produkcji,  
Uniwersytet Ekonomiczny we Wrocławiu, Wrocław

✉agnieszka.piekara@ue.wroc.pl

**Streszczenie.** Spożywanie suplementów stało się niemal modą i dotyczy wielu grup konsumentów. Istotnym problemem wśród produktów będących podmiotem obrotu aptecznego ich jest prawidłowa klasyfikacja do właściwej kategorii. Produkty, które ze względu na właściwości i skład znajdują się „na granicy” dwóch różnych grup, jak np. suplement diety (produkt spożywczy – produkt leczniczy), to właśnie produkty borderline – inaczej produkty z pogranicza. Głównym celem pracy była analiza wiedzy, doświadczenia i praktyki farmaceutów z rejonu Wrocławia i Bolesławca (woj. dolnośląskie) dotyczących suplementów diety i innych produktów z pogranicza. Odpowiedzi respondentów uzyskano za pośrednictwem techniki PSAQ (ang. Paper Self Administered Questionnaires) oraz techniki CAWI (ang. Computer Assisted Web Interview). Pojawianie się w sprzedaży produktów borderline niejednokrotnie jest wynikiem braku unifikacji zasad obrotu tymi produktami na rynku europejskim. W obrocie handlowym mogą być obecne produkty z pogranicza grupy suplementów diety i leków. Na podstawie badań stwierdzono, że zjawisko występowania produktów borderline (lek – suplement diety) jest nieznanne farmaceutom (niemal 70% ankietowanych wskazało, że nie słyszało tego pojęcia wcześniej). Konieczne jest zwiększenie świadomości i wiedzy na temat produktów z pogranicza wśród farmaceutów.

**Słowa kluczowe:** suplementy diety, produkty z pogranicza, badania ankietowe, farmaceuci

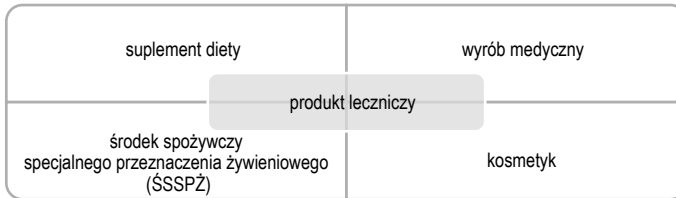
## Wstęp

W ostatniej dekadzie rynek suplementów diety (SD) rozwijał się bardzo dynamicznie. Co roku do rejestru Głównego Inspektoratu Sanitarnego wprowadzanych jest nawet kilkanaście tysięcy zgłoszeń o pierwszym wprowadzeniu na rynek nowego suplementu diety, jednak warto zauważyć, że nie wszystkie z tych produktów finalnie trafiają do sprzedaży. Spożywanie suplementów stało się niemal modą i dotyczy wielu grup konsumentów, począwszy od kobiet



ciężarnych, sportowców i dzieci aż po osoby starsze. Istotnym problemem wśród suplementów diety będących podmiotem obrotu aptecznego ich jest prawidłowa klasyfikacja do właściwych grup (Łanoch, 2019; NIK, 2021).

Produkty borderline (inaczej produkty z pogranicza) to grupy różnorodnych produktów farmaceutycznych będących przedmiotem obrotu aptecznego, które ze względu na skład oraz właściwości są „na granicy” z produktem innej kategorii, np.: suplement diety – produkt leczniczy (ryc. 1) (Wieniawski, 2009; Łanoch, 2019). Należy zaznaczyć, że pojęcie „produktu z pogranicza” nie zostało jednoznacznie zdefiniowane, a wyroby takie mogą spełniać kryteria stawiane dwóm kategoriom lub więcej (ryc. 1) (Szulc, 2015).



**Ryc. 1.** Przykład podwójnej klasyfikacji produktu leczniczego z wybranyimi produktami innych kategorii produktów

\*ŚSSPŻ – środek spożywczy specjalnego przeznaczenia żywieniowego.  
Źródło: opracowanie własne na podstawie Slawik, 2016.

**Fig. 1.** Example of double classification of a medicinal product with selected products from other product categories

\*ŚSSPŻ – foodstuff for particular nutritional uses.  
Source: own study based on Slawik, 2016.

Przykładem produktów zawierających się w grupie produktów z pogranicza są m.in.: preparaty witaminowe o zbliżonym składzie, gdzie jeden produkt witaminowy jest produktem leczniczym, a drugi jest suplementem diety, bądź też pastylki na gardło mające status wyrobu medycznego (Tracz, 2014). Produkcja suplementów diety, m.in. ze względu na ich postać, jest często analogiczna do wyrobu produktów leczniczych (Wieniawski, 2009). SD kwalifikowane są jednak jako środki spożywcze (Stępień i in., 2019; Ustawa o bezpieczeństwie żywności i żywienia, 2009). Należy również dodać, że SD nie są badane w kierunku interakcji z lekami i nie podlegają nadzorowi farmaceutycznemu ani kontroli pod kątem niepożądanego działania (Bojarowicz i Dźwigulska, 2019).

Do kryterium klasyfikacji produktu należą: skład, przeznaczenie, grupa docelowa danego produktu, ewentualne ryzyko przyjmowania produktu (Majchrzak, 2013). Klasyfikacja dobrana do danego wyrobu jest istotna na wielu płaszczyznach, szczególnie ta dotycząca składu (możliwe dopuszczalne substancje w zależności od rodzaju produktu), procedury wprowadzania na rynek, a także norm i regulacji w kwestii znakowania oraz reklam (Tracz, 2014). Jednak określenie przynależności produktu do konkretnej grupy bywa wyzwaniem. Powodem tego są np. występujące różnice oraz warunki rejestracji produktów wprowadzanych na rynek danego państwa, a także niejednolite prawodawstwo i normy prawne występujące w danym kraju (Bardel, 2020). W jednym państwie członkowskim Unii Europejskiej (UE) produkt funkcjonuje jako suplement diety, natomiast w innym może zostać prawnie uznany za lek i powinien być zarejestrowany jako produkt leczniczy (Tseliou, 2015). Przykładowo produkt zawierający w składzie liść miłorzębu w Polsce, Francji, Hiszpanii oraz w Niemczech uważany jest za produkt leczniczy, natomiast w krajach skandynawskich oraz Wielkiej Brytanii jest suplementem diety (Wieniawski, 2009). Przyczyną występowania produktów borderline jest głównie nieścisłość prawna dotycząca właściwej przynależności do danej grupy. Produkty z pogranicza są szeroką kategorią produktów, które znajdują się na skrzyżowaniu przepisów prawnych dotyczących dwóch grup środków.

Sprawa prawidłowej klasyfikacji produktów na płaszczyźnie suplementy diety a leki była wielokrotnie przedmiotem pracy Trybunału Sprawiedliwości Unii Europejskiej (TSUE). W rezultacie powstały pewne kryteria oraz normy dla grupy produktów wątpliwych pod względem prawidłowej przynależności. Jednakże TSUE również zauważył, że powołanie ogólnych norm i zasad jest problematyczne. Każdy przypadek rozgraniczenia kategorii, szczególnie suplementu diety względem produktu leczniczego, powinien być rozpatrywany z osobna (Sławik, 2016). Problem z właściwą klasyfikacją produktu wyjaśnia stanowisko Europejskiego Trybunału Sprawiedliwości (ETS). Z jednej strony produkt może zostać zakwalifikowany jako leczniczy przez samą jego prezentację, wskazującą na działania lecznicze, a z drugiej w wyroku z dnia 15 listopada 2007 r. ETS oznajmił, że samo działanie fizjologiczne danego produktu nie definiuje go jako leku, musi bowiem wykazywać istotny i znaczący wpływ leczniczy. Skutkiem niejedności klasyfikacji jest wykorzystywanie przez producentów produktów z pogranicza tej nieścisłości prawnej. W wyniku świadomie błędnej klasyfikacji podmiot wprowadzający taki produkt może ominąć rygor przepisów i norm prawa farmaceutycznego,

definiując wprowadzany produkt jako SD, środek spożywczy powszechnie dostępny (Majchrzak, 2013).

Jak wspomniano, oficjalna definicja produktów borderline nie funkcjonuje w polskim prawodawstwie. Istnieją jednak ustawy oraz regulacje pośrednio informujące o ich istnieniu na rynku wśród produktów będących podmiotem handlu aptecznego (Kołodziej-Delekta, 2016). Jednym z filarów prawnych nawiązującym do tej szczególnej grupy produktów jest ustawa Prawo farmaceutyczne, a dokładnie art. 3a. W ustawie tej przyjęto zasadę, że do produktu spełniającego jednocześnie kryteria produktu leczniczego oraz kryteria innego rodzaju produktu, w szczególności suplementu diety, stosuje się właśnie przepisy ustawy Prawo farmaceutyczne. W efekcie produkt taki musi podlegać zasadom dotyczącym rejestracji i dopuszczenia do obrotu oraz zasadom GMP obowiązującym przy wytwarzaniu produktów leczniczych (Kot, 2019).

Problematyka pracy obejmowała zbadanie problemu klasyfikacji suplementów i obecności na rynku produktów z pogranicza – produktów borderline. Głównym celem pracy była analiza wiedzy, doświadczenia i praktyki farmaceutów z rejonu Wrocławia i Bolesławca (woj. dolnośląskie) dotyczących suplementów diety i produktów z pogranicza, przeprowadzona za pomocą badania ankietowego.

## **Materialy i metody**

Badanie ankietowe zostało przeprowadzone w okresie od października do listopada 2021 roku. Wzięło w nim udział 55 pracowników aptek otwartych (technicy farmaceutyczni oraz magistrowie farmacji, nazywani konsekwentnie w dalszej części pracy „farmaceutami”) z województwa dolnośląskiego, z miejscowości Wrocław oraz Bolesławiec. Dla wybranych lokalizacji nie można określić liczby czynnych farmaceutów pracujących w aptekach otwartych, ponieważ nie istnieje oficjalny rejestr takich osób. Dane socjodemograficzne badanej grupy przedstawiono w tabeli 1.

Udział w badaniu był dobrowolny oraz anonimowy. Badanie zostało przeprowadzone za pomocą autorskiego kwestionariusza ankiety w sposób hybrydowy. Odpowiedzi respondentów uzyskano za pośrednictwem techniki PSAQ (ang. Paper Self Administered Questionnaires) ankiety w formie papierowej, której kwestionariusz dostarczono bezpośrednio do aptek. Część odpowiedzi uzyskano w formie elektronicznej za pośrednictwem techniki ankietowej CAWI (ang. Computer Assisted Web Interview) w formie wypełniania

**Tabela 1.** Wyniki danych socjodemograficznych badanej grupy  
**Table 1.** Results of the sociodemographic data of the studied group

Parametr	Ogółem N (%)
Płeć	
Kobieta	47 (85,5)
Mężczyzna	8 (14,5)
Wiek (lata)	
poniżej 24	0 (0)
24–34	22 (40)
35–44	22 (40)
45–54	9 (16,4)
55–64	2 (3,6)
powyżej 64	0 (0)
Jako osoba pracująca w aptece ma Pan/Pani wykształcenie jako	
technik farmaceutyczny	21 (38,2)
magister farmacji bez specjalizacji	22 (40)
magister farmacji ze specjalizacją	12 (21,8)
Jakie obecnie posiada Pan/Pani specjalizacje bądź jest Pan/Pani w trakcie specjalizacji	
farmacja apteczna	10 (18,2)
farmacja szpitalna	0 (0)
farmacja kliniczna	2 (3,6)
nie posiadam	43 (78,2)
inne	0 (0)
Czy pracuje Pan/Pani (obecnie/kiedykolwiek) w aptece otwartej?	
tak	55 (100)
nie	0 (0)
Apteka, w której Pan/Pani pracuje, położona jest:	
w mieście o liczbie mieszkańców powyżej 50 tys.	23 (41,8)
w mieście o liczbie mieszkańców poniżej 50 tys.	30 (54,5)
na terenie wiejskim	2 (3,6)
Jaki Pan/Pani posiada staż jako osoba pracująca w aptece (lata)	
mniej niż rok	2 (3,6)
1–3	5 (9,1)
4–10	22 (40)
powyżej 10	25 (45,5)
nie pracuję w aptece otwartej	1 (1,8)

odpowiedzi w internetowym formularzu Google (Krok, 2015). Kwestionariusz skonstruowano wg schematu przedstawionego na rycinie 2. Treść pytań dotyczyła m.in. faktów (przez odwoływanie się do posiadanej przez respondenta wiedzy i informacji zdobytych podczas kształcenia i w zawodzie) oraz spostrzeżeń i opinii związanych z problematyką badań (Babbie, 2013).



**Ryc. 2.** Model badania

Źródło: opracowanie własne.

**Fig. 2.** General survey design

Source: own study.

Ankieta badawcza składała się z trzech części. Pierwsza zawierała pytania metryczkowe, dzięki którym uzyskano niezbędne informacje na temat badanej grupy, takie jak: płeć; wiek; teren zamieszkania oraz lokalizacja apteki, w jakiej respondent pracuje; posiadane wykształcenie farmaceutyczne; staż pracy oraz specjalizacja. Powyższe odpowiedzi umożliwiły charakterystykę wybranych cech grupy respondentów (Krok, 2015). Kolejne pytania ankiety należały do części merytorycznej kwestionariusza. Były to pytania bezpośrednio związane z tematyką suplementów diety oraz produktów borderline (Sztabiński, 2009).

W celu prawidłowego przeprowadzenia badań ankietowych wśród grupy farmaceutów wykonano badanie wstępne na grupie 3 osób zróżnicowanych pod względem wieku, miejsca zamieszkania i lokalizacji apteki, w jakiej pracują. Badanie było elementem walidacji treści i pytań zawartych w arkuszu ankietowym, by uniknąć wprowadzenia sformułowań nieprecyzyjnych bądź niepoprawnych. Wywiad wstępny pomógł zweryfikować nomenklaturę stosowaną wśród farmaceutów oraz poprawnie ułożyć całość. Wstępne badanie pomogło sprawdzić sposób rozumienia pytań znajdujących się w kwestionariuszu oraz reakcje na niektóre z nich (Olbrych, 2009). Podczas badania wstępnego każdy z uczestników zaznaczył, że konieczne jest wyjaśnienie pojęcia produktów z pogranicza, ponieważ może to być pojęcie nieznane pracownikom aptek (rys. 2).

Analizę wyników ankiety badawczej i sporządzenie opisu opracowano przy użyciu arkusza kalkulacyjnego MS Excel. Sprawdzenie występowania zależności statystycznych między danymi zmiennymi przeprowadzono za pomocą odpowiednich narzędzi pakietu statystycznego PQStat (Bobowski, 2004). Weryfikację zależności przeprowadzono za pomocą testu nieparametrycznego chi-kwadrat ( $\chi^2$ ) (Sokołowski, 2004). Za pomocą testu chi-kwadrat ( $\chi^2$ ) wykonano weryfikację dwóch zmiennych podlegających badaniom ankietowym w celu badania ich współzależności (Słowińska, 2019). Analizę wykonano przy założeniu każdorazowo poziomu istotności statystycznej i poziomu ufności na poziomie 95% oraz błędu szacunkowego 5%. Istotność statystyczną we wszystkich analizach przyjęto jako  $p < 0,05$ .

## Wyniki i dyskusja

Problem przyjmowania suplementów diety bez konsultacji oraz badań jest coraz częstszym zjawiskiem zauważanym przez farmaceutów oraz personel medyczny. Jednym z wielu zagrożeń niewłaściwego konsumowania środków spożywczych, jakimi są suplementy diety, są: możliwe interakcje; hiperwitaminoza (przekroczenie UL-upper limit) przez przyjmowanie większych dawek, niż zalecił producent bądź przez często nieuzasadnioną suplementację wprowadzaną przy zbilansowanej diecie; wpływ na wchłanianie oraz działanie niektórych leków przyjmowanych przez pacjenta. Osobą, która może zapobiec działaniom niepożądanym wynikającym z konsumowania suplementów diety, jest farmaceuta (Stoś i in., 2012; Babiarczyk i Grzywacz, 2020).

W pierwszej kolejności sprawdzono znajomość definicji suplementu diety przez badaną grupę respondentów (tab. 2). Sprzedaż suplementów diety stanowi istotny element codziennej pracy tej grupy zawodowej, jednak niewiele z tej grupy osób potrafiło poprawnie zdefiniować, czym są suplementy diety. Ponad połowa farmaceutów zadeklarowała, że suplement diety może wpływać na procesy fizjologiczne i/lub wywołuje efekty odżywcze oraz że jest skoncentrowanym źródłem mikro-, makroskładników, witamin lub składników mineralnych; częściej takich odpowiedzi udzielali farmaceuci z większego miasta (tab. 2). Tylko połowa farmaceutów odpowiedziała, że suplement diety jest środkiem spożywczym. Ponad połowa respondentów zadeklarowała, że suplement diety powinien być spożywany w celu uzupełnienia diety, a blisko 2/3 respondentów wskazało, że suplement diety może zostać wprowadzony do obrotu, prezentowany i reklamowany wyłącznie pod nazwą „suplement diety”. W pytaniu tym

**Tabela 2.** Znajomość pojęcia suplementu diety przez badaną grupę (%)**Table 2.** Knowledge of the definition of a dietary supplement by the group (%)

Lp.	Które poniższe stwierdzenia odnoszą się do pojęcia „suplement diety”*	Ogółem (N = 55)		Miejsce pracy, miasto:			
				< 50 tys. (n = 32)		> 50 tys. (n = 23)	
		n	%	n	%	n	%
1.	Może wpływać na procesy fizjologiczne i/lub ma efekty odżywcze	32	58,2	15	46,9	17	73,9
2.	Jest produktem leczniczym <sup>a</sup>	1	1,8	0	0	1	4,3
3.	Jest skoncentrowanym źródłem mikro-, makro-składników, witamin lub składników mineralnych	32	58,2	18	56,3	14	60,9
4.	Powinien być spożywany w celu uzupełnienia diety	33	60	20	62,5	13	56,5
5.	Jest środkiem spożywczym	25	45,5	12	37,5	13	56,5
6.	Jakość suplementów diety przed jego wprowadzeniem do obrotu jest weryfikowana przez Główny Inspektorat Sanitarny	29	52,7	13	40,6	16	69,6
7.	Jest on dopuszczany do obrotu przez Główny Inspektorat Farmaceutyczny <sup>a</sup>	6	10,9	5	15,6	1	4,3
8.	Wprowadzany jest do obrotu, prezentowany i reklamowany wyłącznie pod nazwą „suplement diety”	40	72,7	24	75	16	69,6
9.	Etykieta zawiera stwierdzenie, że zbilansowana dieta nie może dostarczyć wystarczających dla organizmu ilości składników odżywczych <sup>a</sup>	15	27,3	9	28,1	6	26,1
10.	Musi być produkowany zgodnie ze standardami m.in. Dobrej Praktyki Laboratoryjnej (GLP) <sup>a</sup>	6	10,9	4	12,5	2	8,7

\*Brak zależności istotnych statystycznie przy  $p < 0,05$ .

<sup>a</sup>Stwierdzenia niezgodne z definicją SD.

\*No statistically significant relationships at  $p < 0.05$ .

<sup>a</sup>Statements inconsistent with the definition of SD.

wprowadzono także odpowiedzi nieprawdziwe (pozycje 2, 7, 9, 10, tab. 2). Kilku uczestników badania wskazało je jako odpowiadające definicji i wymaganiom SD. Jedna osoba uznała, że SD jest produktem leczniczym, trudno jednak ocenić, czy w tym przypadku był to błąd ankietowanego czy rzetelna odpowiedź.

Aby to zweryfikować, warto byłoby przeprowadzić wywiad poszerzony, co może być wskazówką w przypadku prowadzenia badań w tym zakresie.

Chorwaccy farmaceuci (N = 112) biorący udział w badaniu Bukic i in. (2021) uzyskali wysokie wyniki w teście wiedzy ogólnej na temat suplementów diety. Jednak mimo dobrych wyników w zakresie ogólnej wiedzy nie korzystali z wysokiej jakości źródeł. Duża część mniej doświadczonych farmaceutów wykorzystywała etykiety na opakowaniach produktów jako podstawowe lub nawet jedyne źródło, chociaż nie zawierają one wystarczających informacji (Bukic i in., 2021). Konieczność zwiększenia znaczenia tematyki dotyczącej suplementów diety oraz produktów ziołowych podczas edukacji dostrzegł Axon i in. (2017) (N = 179, USA), stwierdzając, że studenci farmacji mają ograniczoną wiedzę w tym zakresie, a ich rola w pracy zawodowej będzie polegała m.in. na udzielaniu pacjentom odpowiednich porad dotyczących stosowania takich produktów. W badaniach przeprowadzonych przez Babiarczyk i Grzywacz (2020) (w 2018 r., w okresie maj – sierpień) na grupie 97 farmaceutów pracujących w aptekach ogólnodostępnych oraz w punktach aptecznych, położonych w miastach oraz wsiach na terenie powiatu wadowickiego, stwierdzono, że istnieje zależność między wiekiem badanego farmaceuty a pytaniem konsumentów o stosowane już leki i spożywane suplementy diety. Analiza ujawniła, że im starszy był respondent (farmaceuta), tym częściej deklarował, że zadawał pytanie pacjentowi o obecnie konsumowane środki spożywcze i stosowane produkty lecznicze, np. w celu uniknięcia przedawkowania bądź wystąpienia interakcji między produktami leczniczymi a suplementami diety (Babiarczyk i Grzywacz, 2020).

Ważnym problemem, często poruszonym w dyskusji na temat spożywania suplementów diety, jest możliwość występowania interakcji na linii przyjmowany przez konsumenta lek – suplement diety, a także przeciwwskazań do spożycia SD przez dzieci, osoby starsze czy kobiety w ciąży (Stoś, 2019). W związku z tym zapytano badaną grupę o przeciwwskazania dotyczące spożywania suplementów przez poszczególne grupy osób. Farmaceuci są często kluczowym źródłem informacji dla pacjentów poszukujących wskazówek dotyczących stosowania, bezpieczeństwa i skuteczności SD. Jednak nie wszyscy farmaceuci są zdecydowani oraz pewni posiadanej wiedzy na temat możliwych przeciwwskazań do spożywania suplementów, pomimo oczekiwań ze strony klientów i konsumentów, którzy darzą pracowników aptek społecznym zaufaniem (tab. 3). W związku z dużą liczbą dostępnych suplementów diety oraz skłonnością Polaków do ich nadużywania farmaceuci powinni mieć wiedzę



**Tabela 3.** Deklaracja farmaceutów dotycząca oceny swojej wiedzy o możliwych interakcjach lek – suplement diety (%)

**Table 3.** Pharmacists' declaration regarding the assessment of their knowledge about possible drug – dietary supplement interactions (%)

Mam wystarczającą wiedzę o możliwych interakcjach lek – SD* (%)	Ogółem (N = 55)		Miejsce pracy/miasto			
			> 50 tys. (n = 32)		< 50 tys. (n = 23)	
	n	%	n	%	n	%
Zdecydowanie tak	8	14,5	5	15,6	3	13
Raczej tak	37	67,3	21	65,6	16	69,6
Nie mam zdania	5	9,1	4	12,5	1	4,3
Raczej nie	4	7,3	2	6,3	2	8,7
Zdecydowanie nie	1	1,8	0	0	1	4,3

\*SD – suplement diety.

\*SD – dietary supplement.

o skutkach zdrowotnych nieodpowiedniego łączenia produktów. Bez względu na miejsce pracy farmaceuty zdecydowana większość ankietowanych zadeklarowała, że ma raczej lub zdecydowanie wystarczającą wiedzę o interakcjach lek – SD (tab. 3). Jednak podobnie jak to miało miejsce w pytaniu dotyczącym ogólnych przeciwwskazań, dominowała deklaracja, że ankietowany ma raczej wystarczającą wiedzę na temat wspomnianych interakcji. Jest to kolejny przykład pewnego braku zdecydowanego zapewnienia ze strony farmaceuty, że jest pewien swoich kompetencji. Niestety, nie jest to obserwacja odosobniona; również w innych rejonach świata dostrzegane są problemy związane z brakiem wystarczającej wiedzy farmaceutów w analizowanym zakresie. Problem ten wydaje się zrozumiały w kontekście rosnącej różnorodności i liczby suplementów dostępnych w sprzedaży, pojawiających się przypadków zafałszowań oraz występowania produktów z pogrnicza.

Bardzo rzadko, jednak może się zdarzyć, że w wyniku spożywania suplementów diety dochodzi do występowania działań niepożądanych, np. na skutek nadmiernego spożywania suplementów. Suplement diety może pomagać w uzupełnianiu niedoborów witamin bądź składników mineralnych, lecz spożywany bez konsultacji z lekarzem bądź farmaceutą może powodować interakcje lekami bądź wpływać na wyniki badań diagnostycznych lub po prostu mogą istnieć przeciwwskazania do konsumpcji przez daną grupę osób

(ze względu na przebyte choroby) (Mieszkowska i Michota-Katulska, 2008). Podobne badania zostały przeprowadzone w 2015 r. na terenie jednego ze stanów USA wśród 639 farmaceutów. Ponad połowa tej grupy (59%) zadeklarowała, że suplementy są zdecydowanie bezpieczne i ponadto sami deklarowali ich spożywanie (Marupuru i in., 2019). Powyższe badanie można porównać do kontekstu postrzegania bezpieczeństwa stosowania suplementów diety przez konsumentów, a konkretniej przez grupę farmaceutów.

Interakcje produktów takich jak leki i suplementy należą do możliwych zagrożeń, których monitorowaniem zajmuje się Zespół ds. Suplementów Diety (Brzezińska i Grembecka, 2021). Podczas spożywania wybranych suplementów diety istnieje ryzyko występowania interakcji z niektórymi lekami, a nawet między poszczególnymi składnikami danego suplementu. Zjawisko interakcji może wpływać na proces wchłaniania leków, osłabiać lub nasilać działanie produktu leczniczego, co w konsekwencji może prowadzić do różnych działań niepożądanych wpływających na bezpieczeństwo konsumenta. Zatem ważne jest, aby pracownik apteczny miał istotną wiedzę dotyczącą interakcji chociażby między suplementami a lekami i mógł przekazać konsumentom rzetelne informacje (Baraniak i Kania, 2015).

Badania na grupie 500 farmaceutów na terenie Teheranu (Iran) dotyczące wiedzy i praktyki związanej z suplementami diety przeprowadzili Mehralian i in. (2013). Farmaceutów zapytano m.in. możliwe działania niepożądane, interakcje lek – SD czy też o przeciwwskazania dla konkretnych grup konsumentów. Wyniki subiektywnej oceny wiedzy farmaceutów pokazały, że ponad połowa z nich (57,6%, czyli 288 ankietowanych) zadeklarowała słaby zasób wiedzy związanej z suplementami diety, a 105 ankietowanych miało przeciętną wiedzę o suplementach (21%) (Meharalian i in., 2013).

Podczas analizy wyników badania ankietowego, przeprowadzonego na grupie pracowników aptek położonych na terenie powiatu wadowickiego, wykazano zależność statystyczną wykształcenia i częstości przekazywania informacji o działaniach niepożądanych (takich jak np. interakcje między np. suplementami a lekami wśród konsumentów) pewnych produktów do URPLW MiPB. Stwierdzono, że częściej takie informacje przekazują farmaceutyci z wykształceniem wyższym II stopnia (magister farmacji) niż technicy (Babiarczyk i Grzywacz, 2020).

W badaniach przeprowadzonych wśród farmaceutów aptek ogólnodostępnych oraz studentów IV i V roku Wydziału Farmaceutycznego UJCM w Krakowie jedynie co piąty ankietowany (20%) uznał techników farmaceutycznych

za tak samo kompetentnych jak magistrów farmacji. Należy również wspomnieć o obecnych regulacjach prawnych, jasno rozgraniczających kompetencje i możliwości magistrów oraz techników farmaceutycznych (Gołda i in., 2018)

Sprawdzono rozkład odpowiedzi w zależności od długości stażu pracy farmaceutów. Z badań własnych wynika, że farmaceuci ze stażem powyżej 10 lat częściej deklarowali wystarczającą wiedzę na temat interakcji między suplementami a niektórymi produktami leczniczymi. W badaniach Babiarczyk i Grzywacz (2020) przeprowadzonych w grupie pracowników aptek (magistrów oraz techników) na terenie powiatu wadowickiego stwierdzono, że im dłuższy był staż badanego farmaceuty, tym częściej zadawał konsumentowi pytanie odnośnie do stosowanych już suplementów bądź leków (w celu uniknięcia przedawkowania bądź wystąpienia działań niepożądanych lub interakcji) (Babiarczyk i Grzywacz, 2020).

Kluczowym elementem badania ankietowego było badanie świadomości i wiedzy farmaceutów na temat produktów borderline. W pierwszej kolejności zapytano farmaceutów, czy spotkali się z takim określeniem. Niemal 70% respondentów nie знаło wcześniej pojęcia produktów borderline (produktów z pogranicza) (tab. 4). Tylko niewielki odsetek badanych wskazał na znajomość powyższego pojęcia z czasopism branżowych lub artykułów naukowych.

W ankiecie umieszczono jedną z definicji produktów borderline, przez co sam udział w badaniu mógł mieć wymiar edukacyjny dla jego uczestników (ryc. 2). Pozwoliło to pogłębić badanie o takie aspekty jak: postrzeganie tej

**Tabela 4.** Deklaracja farmaceutów odnośnie do znajomości pojęcia grupy produktów borderline (%)

**Table 4.** Pharmacists' declaration of knowledge of the concept of borderline products (%)

Czy spotkał się Pan/Pani z pojęciem produktów borderline?	Ogółem (N = 55)		Miejsce pracy			
			< 50 tys. (n = 32)		> 50 000 (n = 23)	
	n	%	n	%	n	%
Tak, podczas kształcenia uczelnianego	2	4	0	0	2	9
Tak, podczas kształcenia policealnego	1	2	1	3	0	0
Tak, podczas kształcenia ustawicznego	1	2	1	3	0	0
Tak, podczas praktyki zawodowej	3	5	1	3	2	9
Tak, podczas konferencji	1	2	1	3	0	0
Tak, w czasopiśmie branżowych/artykułach naukowych	9	16	6	19	3	13
Nie	38	69	22	69	16	70

grupy produktów przez pracowników aptek, ich chęć pogłębiania wiedzy czy świadomość obecności takich produktów na rynku. Po zapoznaniu respondentów z ogólnym opisem dotyczącym produktów borderline oraz przykładami takich wyrobów zapytano, czy jest to dla nich zrozumiałe oraz czy przypominają sobie, aby w pracy zawodowej mieli do czynienia z takimi wyrobami. Po pierwsze, zdecydowana większość badanych bez względu na miejsce pracy zadeklarowała zrozumienie tego terminu oraz spotkała się z tą grupą produktów (tab. 5). Natomiast co czwarta osoba z badanych (farmaceuci z mniejszego miasta) pomimo wskazania przykładów oraz formalnej definicji zadeklarowała, że nie spotkała się z taką grupą produktów.

**Tabela 5.** Ogólne zrozumienie pojęcia produktów borderline (%)

**Table 5.** General understanding of the definition of borderline products (%)

	Zrozumienie ogólnego pojęcia produktów borderline przez badaną grupę farmaceutów, po przedstawieniu jednej z definicji			Deklaracja farmaceutów o tym, czy spotkali się z przypadkami produktów borderline podczas praktyki zawodowej		
	ogółem	farmaceuci z większego miasta > 50 tys.	farmaceuci z mniejszego miasta > 50 tys.	ogółem	farmaceuci z większego miasta > 50 tys.	farmaceuci z mniejszego miasta > 50 tys.
Tak	78,2	75,0	82,6	70,9	73,9	68,8
Nie	21,8	25,0	17,4	29,1	26,1	31,2

Na podstawie udzielonych odpowiedzi (tab. 6 i 6a) można stwierdzić, że badani farmaceuci deklarują, że rozumieją problem wynikający z podwójnej klasyfikacji produktów oraz identyfikują takie produkty (wyroby). Udział w niniejszym badaniu spełnił więc walor edukacyjny, zwiększając świadomość i wiedzę farmaceutów na temat produktów borderline.

Uczestników badania zapytano także, czy w ich opinii produkty borderline (interakcje suplement diety – lek) mogą stanowić realne zagrożenie na konsumentów. Zarówno w grupie farmaceutów z mniejszego miasta, jak i z dużego ponad połowa badanych (52,7%, suma odpowiedzi zdecydowanie tak i raczej tak) dostrzegła takie zagrożenia, jednak aż 30% farmaceutów reprezentujących duży ośrodek nie miało zdania na ten temat i aż 23,6% farmaceutów ogółem nie dostrzegало (zdecydowanie nie i raczej nie) możliwości wystąpienia zagrożenia związanego z istnieniem takich produktów na rynku.

**Tabela 6.** Opinia farmaceutów na temat tego, czy produkty borderline stanowią realne zagrożenie dla zdrowia konsumentów (%)

**Table 6.** Pharmacists' declaration whether the group of borderline products may pose a real threat to the consumer's life and health (%)

Czy produkty borderline stanowią realne zagrożenie dla zdrowia konsumentów?	Ogółem (N = 55)		Farmaceuci z mniejszego miasta < 50 tys. (n = 32)		Farmaceuci z większego miasta > 50 tys. (n = 23)	
	n	%	n	%	n	%
Zdecydowanie tak	12	21,8	8	25	4	17,4
Raczej tak	17	30,9	8	25	9	39,1
Nie mam zdania	13	23,6	6	18,8	7	30,4
Raczej nie	12	21,8	9	28,1	3	13
Zdecydowanie nie	1	1,8	1	3,1	0	0

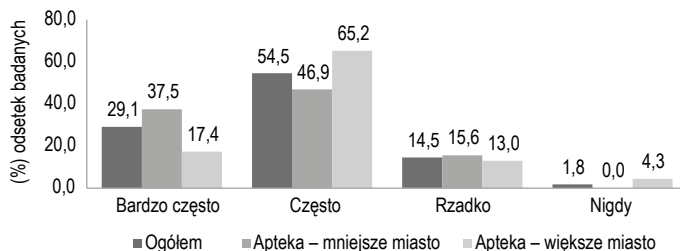
**Tabela 6a.** Opinia farmaceutów na temat tego, czy produkty borderline stanowią realne zagrożenie dla zdrowia konsumentów (%)

**Table 6a.** Pharmacists' declaration whether the group of borderline products may pose a real threat to the consumer's life and health (%)

Czy produkty borderline stanowią realne zagrożenie dla zdrowia konsumentów?	Odpowiedzi 4 i 5		Średnia	Mediana
	n	%		
Ogółem	29	52,7	3,49	4
Farmaceuci z mniejszego miasta < 50 tys. (n = 32)	16	50	3,41	3,5
Farmaceuci z większego miasta > 50 tys. (n = 23)	13	56,5	3,60	4

Prawie wszyscy farmaceuci (blisko 90% respondentów z obu miast, suma odpowiedzi zdecydowanie tak i raczej tak) zadeklarowali, że temat produktów z pogranicza zdecydowanie powinien być omawiany podczas kształcenia przyszłych farmaceutów oraz techników farmaceutycznych. Ponadto ponad połowa respondentów zadeklarowała, że pacjenci często pytają ich o różnice między SD a lekiem, gdy skład danych produktów jest zbliżony albo identyczny (rys. 3).

Kolejnym badanym aspektem była opinia farmaceutów dotycząca kryteriów wyboru produktu przez konsumentów. Czynniki, jakie wzięto pod uwagę, to cena oraz status produktu. Na rynku, w tym również w obrocie aptecznym,



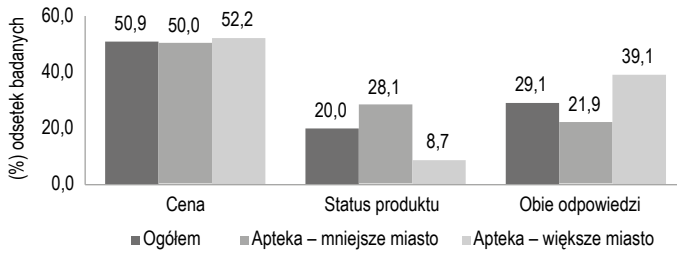
**Rys. 3.** Częstotliwość pytań konsumentów o różnice między lekiem i suplementem diety, gdy mają do czynienia ze zbliżonym składem produktów (%) w zależności od miejsca pracy farmaceuty (apteka mniejsze miasto/apteka większe miasto)

**Fig. 3.** The frequency of consumers' questions about the drug – dietary supplement differences when they deal with a similar composition of products (%) depending on the pharmacy localization (small city/big city).

znajdują się produkty o zbliżonym składzie, nazwie lub prezentacji. Rolą farmaceuty jest wyjaśnienie, na czym polega różnica między poszczególnymi wyrobami. Badana grupa farmaceutów zadeklarowała, że dla konsumenta ważna jest cena danego produktu (to główne kryterium wyboru produktu), przy czym więcej takich odpowiedzi uzyskano od farmaceutów z większego miasta (ponad połowa ankieterowanych) (rys. 3).

Farmaceuci są zobligowani do ciągłego kształcenia i aktualizacji swojej wiedzy, dlatego zapytano ich, czy chcieliby dowiedzieć się więcej na temat grupy produktów borderline – produktów z pogranicza. Prawie połowa farmaceutów (obydwo grup) zadeklarowała, że raczej byłaby zainteresowana poszerzaniem wiedzy o produktach borderline (tab. 7); częściej taką opinię podzielali farmaceuci z większego miasta (co drugi z respondentów). Zdecydowanie poszerzały tę wiedzę co piąty z badanych (farmaceuci z obydwu grup), szczególnie farmaceuci z większego miasta (ponad 1/4 badanych).

Ze względu na zbyt dużą dysproporcję w liczbie kobiet i mężczyzn, którzy wzięli udział w badaniu, nie analizowano zależności statystycznej płci respondentów z pozostałymi zmiennymi. Zgodnie z danymi Głównego Urzędu Statystycznego (GUS) z 2020 r. kobiety stanowią większość w całej grupie aptekarzy. Wśród aktywnie zawodowo magistrów farmacji wskazano, że kobiety stanowią 83%, natomiast wśród techników farmaceutycznych aż 94,2% (Polityka Zdrowotna, 2021). Powyższe dane są odzwierciedleniem struktury płci w zawodzie farmaceuty, gdzie zdecydowanie dominują kobiety.



**Rys. 4.** Odsetek (%) badanych respondentów wskazujących, czy podczas zakupów w aptece ważniejszy jest status – lek/SD\* czy cena produktu, w zależności od miejsca pracy farmaceuty (apteka mniejsze miasto/ apteka większe miasto)  
\*SD – suplement diety.

Źródło: opracowanie własne na podstawie wyników ankiety.

**Fig. 4.** Percentage (%) of respondents indicating, when during shopping at a pharmacy more important is the status – drug/SD\* or the price of the product, depending on the pharmacy localization (small city/big city)  
\*SD – dietary supplement.

Source: own study based on the survey results.

**Tabela 7.** Zainteresowanie badanych farmaceutów poszerzaniem wiedzy o produktach borderline (%)

**Table 7.** The interest of the surveyed pharmacists in expanding their knowledge of borderline products (%)

Czy byłby Pan/Pani zainteresowany/a poszerzaniem wiedzy w zakresie produktów borderline?	Ogółem (N = 55)		Farmaceuci z mniejszego miasta 50 tys. (n = 32)		Farmaceuci z większego miasta > 50 tys. (n = 23)	
	n	%	n	%	n	%
Zdecydowanie tak	11	20	5	16	6	26
Raczej tak	26	47	14	44	12	52
Nie mam zdania	12	22	8	25	4	17
Raczej nie	5	9	4	13	1	4
Zdecydowanie nie	1	2	1	3	0	0

W badaniu sprawdzano zależności takie jak: staż, wiek, miejsce pracy, posiadana specjalizacja oraz wykształcenie badanej grupy farmaceutów, z zadeklarowanymi odpowiedziami dotyczącymi produktów borderline, jednak

m.in. ze względu na małą liczebność badanej grupy nie stwierdzono zależności istotnych statystycznie między powyższymi zmiennymi. Ze względu na zbyt dużą dysproporcję liczby kobiet i mężczyzn, którzy wzięli udział w badaniu, nie analizowano zależności statystycznej płci respondentów od pozostałych zmiennych. Należałoby powtórzyć badanie wśród większej grupy farmaceutów.

## Wnioski

Zjawisko występowania produktów borderline (lek – suplement diety) jest nieznanie farmaceutom. Konieczne jest budowanie świadomości wśród farmaceutów na temat grupy produktów borderline, a ponad połowa badanych wyraziła chęć poszerzania wiedzy odnośnie do tej grupy produktów (67% ogółem farmaceutów). Farmaceuci to grupa zawodowa, od której oczekuje się rzetelnych informacji i porad dotyczących stosowania suplementów diety oraz ich potencjalnego wpływu na organizm człowieka. Tym samym dane obrazujące braki wiedzy farmaceutów powinny być sygnałem konieczności doszkalania farmaceutów, ponieważ sprzedaż suplementów diety jest ich codzienną praktyką.

**Źródło finansowania:** autorzy nie deklarują żadnego zewnętrznego źródła finansowania

**Konflikt interesów:** brak

## Literatura

- Axon, D.R., Vanova, J., Edel, C., Slack, M. (2017). Dietary supplement use, knowledge, and perceptions among student pharmacists. *American Journal of Pharmaceutical Education*, 81(5), 92. <https://doi.org/10.5688/ajpe81592>
- Babbie, E. (2013). Podstawy badań społecznych. Wyd. Nauk. PWN.
- Babiarczyk, B., Grzywacz, A. (2020). Opinia pracowników aptek na temat nadużywania suplementów diety przez osoby starsze. *Gerontologia Polska*, 28, 28–37.
- Baraniak, J., Kania, M. (2015). Suplementy diety, środki spożywcze specjalnego przeznaczenia żywieniowego a lek roślinny w świetle współczesnej fitoterapii. Instytut Włókien Naturalnych i Roślin Zielarskich w Poznaniu.
- Bardel, A. (2020). Produkty z pogranicza (borderline product). *LAB*, 20(4), 31–34.
- Bobowski, Z. (2004). Wybrane metody statystyki opisowej i wnioskowania statystycznego. Wyd. WWSZiP.



- Bojarowicz, H., Dźwigulska, P. (2012). Suplementy diety a leki – porównanie wymagań prawnych – Część I. *Hygeia Public Health*, 47(4), 427–432.
- Brzezińska, J., Grembecka, M. (2021). Suplementy diety – specyficzna żywność. *Popty Higienu i Medycyny Doświadczalnej*, 75, 655–673.
- Bukic, J., Kuzmanic, B., Rusic, D., Portolan, M., Mihanovic, A., Seselja Perisin, A., Leskur, D., Petric, A., Bozic, J., Tomic, S., Modun, D. (2021). Community pharmacists' use, perception and knowledge on dietary supplements: a cross sectional study. *Pharmacy Practice*, 19(1), 2251. <https://doi.org/10.18549/PharmPract.2021.1.2251>
- Dziedziński, M., Goryńska-Goldmann, E., Kobus-Cisowska, J., Szczepaniak, O., Marciniak, G. (2019). Problem nadkonsumpcji suplementów diety przez Polaków. *Intercathedra*, 3(40), 235–242.
- Fijałek, Z., Sarna, K. (2009). Wybrane aspekty jakości produktów leczniczych i suplementów diety – produkty substandardowe nielegalne i sfałszowane. *Rynek Farmaceutyczny*, 65(7), 467–475.
- GIS. Pobrano 12 października 2021 z: <https://powiadomienia.gis.gov.pl/>
- Gołda, A., Dymek, J., Geisler, A., Dereń, J., Skowron, A. (2018). Bezpieczeństwo pacjentów stosujących leki OTC – czy warto coś zmienić? Badanie opinii magistrów i studentów farmacji. *Farmacja Polska*, 74(8), 445–452.
- Habior, A. (2012). Zioła i suplementy diety a ryzyko uszkodzenia wątroby. *Via Medica*, 4(2), 59–68.
- Kołodziej-Deleka, J. (2016). Borderline products, czyli problemy z klasyfikacją produktów z pogranicza. Pobrano 25 października 2021 z: <https://radca.eu/publikacje/borderline-products-czyli-problemy-z-klasyfikacja-produktow-z-pogranicza>
- Kot, K. (2019). Jak klasyfikować, czy dany produkt jest produktem spożywczym, czy leczniczym? *Bezpieczeństwo Żywności w Praktyce* (7). Pobrano z: <https://bezpieczenstwozywnosci.wip.pl/nr-7-czerwiec-2019/jak-klasyfikowac-czy-dany-produkt-jest-produktem-spozywczym-czy-leczniczym-3716.html>
- Krejpcio, Z., Skwarek, K., Hyżyk, A.K., Dyba, S. (2011). Ocena powszechności spożycia suplementów diety w wybranej grupie osób aktywnych sportowo. *Problemy Higieny i Epidemiologii*, 92(4), 935–938.
- Krok, E. (2015). Budowa kwestionariusza ankietowanego a wyniki badań. *Zeszyty Naukowe Uniwersytetu Szczecińskiego*, 37, 874.
- Łanoch, M. (2019). Produkty borderline – na pograniczu suplementu diety a produktu leczniczego. *Świat Przemysłu Farmaceutycznego*, 4, 12–14.
- Majchrzak, D. (2013). Problematyka pogranicza suplementu diety a produktu leczniczego. *Przegląd Prawniczy ELSA Poland*, 1, 133–142.
- Marupuru, S., Axon, D.R., Slack, M.K. (2019). How do pharmacists use and recommend vitamins, minerals, herbals and other dietary supplements? *BMC Complementary Medicine and Therapies*, 19, 229.
- Mehralian, G., Yousefi, N., Hashemian, F., Maleksabet, H. (2014). Knowledge, attitude and practice of pharmacists regarding dietary supplements: A community pharmacy – based survey in Tehran. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 13(4), 1457–1465.

- NIK (Najwyższa Izba Kontroli) (2021). Wprowadzanie do obrotu suplementów diety. Informacja o wynikach kontroli. Nr ewid. 160/2021/P/21/078/LLO, LLO.430.005.2021
- Olbrych, B. (2009). Organizacja wywiadu z kwestionariuszem ankietowym do badania jakości usług. *Folia Oeconomica*, 227, 137–149.
- Polityka Zdrowotna.com (2021). GUS: w 2020 r. nieco mniej aptek, a więcej zatrudnionych farmaceutów. Pobrano 28 grudnia 2021 z: <https://www.politykazdrowotna.com/73748,gus-w-2020-r-nieco-mniej-aptek-a-wiecej-zatrudnionych-farmaceutow>
- Sławik, E.A. (2016). A food supplement or a medicinal product? Borderline products in the EU. University & Research Wageningen (master thesis).
- Słowińska, M. (2019). Wykorzystanie testu chi-kwadrat w badaniach preferencji żywieniowych konsumentów. *Nauki Inżynierskie i Technologia*, 1(32), 24–38.
- Sokołowski, A. (2004). O niewłaściwym stosowaniu metod statystycznych. StatSoft Polska.
- Stoś, K., Wierzejska, R., Siuba, M. (2012). Rola suplementów diety w realizacji norm (s. 182–188). Instytut Żywności i Żywienia.
- Sztabiński, F. (2009). Ankieta internetowa (CAWI): czy rzeczywiście idealna technika (s. 149–151). Polska Agencja Rozwoju Przedsiębiorczości.
- Szulc, A. (2015). Borderline products, czyli produkty z pogranicza. *Biotechnologia.pl*. <https://biotechnologia.pl/kosmetologia/artykuly/borderline-products-czyli-produkty-z-pogranicza,15470?page=1> (dostęp: 2.11.2021)
- Tracz M. (2014), Produkty z pogranicza – korzyści i ryzyka związane z klasyfikacją. DZP więcej niż prawo. Pobrano 25 października 2021 z: <https://www.dzp.pl/blog/pharma/produkty-z-pogranicza-korzysci-i-ryzyka-z-wyboru-klasyfikacji/>
- Tseliou, T. (2015). Balancing protection of public health and safety with the free movement of goods in the EU Medical device sector: the case of ‘borderline products’ classification. Tilburg University.
- Uchwała Komisji ds. Produktów z Pogranicza z dnia 21.01.2013 r. (Nr 2013/7).
- Uchwała Komisji ds. Produktów z Pogranicza z dnia 21.01.2013 r. (Nr 2013/8).
- Uchwała Komisji ds. Produktów z Pogranicza z dnia 21.01.2013 r. (Nr 2013/7).
- Ustawa z dnia 25 sierpnia 2006 r. o bezpieczeństwie żywności i żywienia (Dz.U. 2006 nr 171 poz. 1225).
- Wieniawski, W. (2009),. Problemy kontroli nad produktami „pogranicza” (suplementy diety, dermokosmetyki, antyseptyki). IV Forum Farmacji Przemysłowej, Kościelisko Kongresy i Konferencje, Polskie Towarzystwo Farmaceutyczne.
- Zdrojewicz, Z., Winiarski, J., Popowicz, E., Szycyca, M., Śmieszniak, B., Michalik, T., Buczek, K. (2019). Rola argininy w organizmie człowieka. *Zeszyty Naukowe PWSZ im. Witelona w Legnicy*, 30(1), 163–171.

## Borderline products in drugstore turnover – a chemists' perspective

**Abstract.** Taking supplements has almost become a social trend. It affects various groups of consumers. Putting pharmaceutical products into correct categories is an important issue. Products, which are “on the border” or, in other words, in between two categories of products due to their properties and composition, such as dietary supplements (food product – medicinal product), are known as borderline products. The main objective of the study was to analyze the knowledge, experience, and practices of the pharmacists from the area of Wrocław and Bolesławiec (Dolnośląskie Province) associated with dietary supplements and borderline products. Answers provided by the respondents were obtained using the Paper Self Administered Questionnaires (PSAQ) technique and the Computer Assisted Web Interview (CAWI) technique. The appearance of borderline products in the market often results from a lack of unification of trading rules applying to such products on the European market. Products on the border between the group of dietary supplements and medicines may appear in the market. The level of education of a pharmacist and seniority in the profession is related to the level of knowledge about selected aspects associated with the safety of using dietary supplements. The phenomenon of borderline products (drug-dietary supplement) is unknown to most pharmacists. Almost 70% of respondents indicated that they had not encountered this concept before. It is necessary to raise awareness and knowledge of borderline products among pharmacists.

**Keywords:** dietary supplements, borderline products



Niniejsza monografia stanowi zwieńczenie XXVI Sesji Sekcji Młodej Kadry Naukowej Polskiego Towarzystwa Technologów Żywności pt. „Żywność dzisiaj. Lokalna czy globalna, tradycyjna czy innowacyjna?”, która odbyła się w dniach 19-20 maja 2022 r. na Uniwersytecie Przyrodniczym w Poznaniu. Odzwierciedleniem aktualnych trendów – z perspektywy teoretycznej, metodycznej i praktycznej – są szeroko podejmowane zagadnienia badawcze przez kolejnych młodych naukowców. Należą do nich tematyka związana z analizą aktywności antyoksydacyjnej surowców, fortyfikacja żywności, modulowanie składu białka czy finalnie projektowanie nowych produktów spożywczych. Istotnymi zagadnieniami są również aspekty związane z modyfikacją bakterii probiotycznych – zwiększającą ich adhezję do nabłonka jelitowego, tematyka jakości i bezpieczeństwa produktów regionalnych, jak również tzw. produktów typu *borderline*, występujących powszechnie w obrocie farmaceutycznym.



ISBN 978-83-67112-27-7

