



# Substancje bioaktywne w surowcach i produktach spożywczych

Systemy produkcji i pakowania żywności zapewniające ich zachowanie w łańcuchu żywnościowym

pod redakcją  
Joanny Stadnik

# Substancje bioaktywne w surowcach i produktach spożywczych

Systemy produkcji i pakowania żywności  
zapewniające ich zachowanie  
w łańcuchu żywnościowym

**AUTORZY:**

Joanna Barłowska

Aneta Brodziak

Piotr Domaradzki

Mariusz Florek

Ewa Jabłońska-Ryś

Agnieszka Kaliniak-Dziura

Małgorzata Karwowska

Monika Kędzierska-Matysek

Dariusz Kowalczyk

Marek Kowalczyk

Klaudia Kowalik

Aneta Krawiec

Jolanta Król

Małgorzata Materska

Iwona Niedźwiedź

Magdalena Polak-Berecka

Małgorzata Ryszkowska-Siwko

Monika Sachadyn-Król

Wioletta Sawicka-Zugaj

Piotr Skąlecki

Piotr Stanek

Dariusz M. Stasiak

Anna Teter

Barbara Topyła

Adam Waśko

Karolina M. Wójciak

Katarzyna Zdrzałek

Paweł Żółkiewski

**Substancje bioaktywne  
w surowcach i produktach spożywczych**

**Systemy produkcji i pakowania żywności  
zapewniające ich zachowanie  
w łańcuchu żywnościowym**

pod redakcją  
Joanny Stadnik



Wydawnictwo Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie



Recenzenci

Prof. dr hab. Agnieszka Kita  
Prof. dr hab. Danuta Kołożyn-Krajewska

Opracowanie redakcyjne

Ewa Zawadzka-Mazurek  
Magdalena Marcewicz

Skład i łamanie

Małgorzata Grzesiak

Projekt okładki

Anna Kowalczyk



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

© Copyright by Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie – Wydawnictwo, Lublin 2021

DOI: 10.24326/mon.2022.5  
ISBN 978-83-7259-352-8 on line

Wydawnictwo Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie  
ul. Akademicka 15, 20-950 Lublin  
<https://up.lublin.pl/nauka/wydawnictwo/>  
Ark. wyd. 17

## Wstęp

Żywność należy do najważniejszych czynników środowiskowych decydujących o długości i jakości życia człowieka. Występowanie chorób cywilizacyjnych (określanych obecnie mianem przewlekłych chorób niezakaźnych) jest w dużym stopniu powodowane niewłaściwym sposobem odżywiania (dietozależne choroby cywilizacyjne).

Współcześnie konsumenci oczekują, że żywność będzie służyła nie tylko zaspokojeniu głodu, ale dodatkowo będzie pełniła wiele innych, coraz bardziej zróżnicowanych i zindywidualizowanych funkcji przyczyniających się do poprawy jakości życia, m.in. wspomaganie zdrowia, utrzymanie zgrabnej sylwetki i dobrej kondycji fizycznej.

Zróżnicowanie czynników warunkujących zachowania i wybory konsumenckie generuje zapotrzebowanie na coraz bogatszą i nowocześniejszą ofertę przemysłu spożywczego. Zaspokajanie potrzeb nowoczesnych konsumentów będzie w perspektywie najbliższych lat podstawowym kierunkiem rozwoju przetwórstwa spożywczego, co bez wątpienia wyznacza nowe obszary badawcze i stymuluje rozwój dyscypliny technologia żywności i żywienia.

Konsekwencją zwiększonego zainteresowania konsumentów zdrowiem i żywnością oraz profilaktyką chorób dietozależnych jest produkcja żywności z surowców o podwyższonej wartości odżywczej i bogatych w substancje bioaktywne. Jakość surowców decyduje o cechach i wartości żywieniowej produktu spożywczego. Naturalne modyfikacje systemu upraw roślin (dobór odmiany roślin i warunków uprawy) i hodowli zwierząt (dobór ras i specjalnie skomponowanej diety) prowadzą do uzyskania surowców roślinnych i zwierzęcych o podwyższonej jakości zdrowotnej zawierających składniki bioaktywne. Wyzwaniem jest opracowanie systemów ich produkcji i pakowania zapewniających zachowanie składników ważnych w profilaktyce dietozależnych chorób cywilizacyjnych.

Wychodząc naprzeciw tym oczekiwaniom, przygotowano niniejszą monografię naukową, której głównym celem jest przedstawienie aktualnego stanu wiedzy dotyczącego surowców i produktów pochodzenia zwierzęcego, surowców i produktów pochodzenia roślinnego oraz niekonwencjonalnych metod ich utrwalania i pakowania w aspekcie możliwości opracowania systemów ich produkcji, przetwarzania i pakowania zapewniających zachowanie bioaktywnych składników ważnych w profilaktyce chorób cywilizacyjnych.

*Projekt finansowany w ramach programu Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego pod nazwą „Regionalna Inicjatywa Doskonałości” w latach 2019–2022, nr projektu 029/RID/2018/19, kwota finansowania 11 927 330,00 zł.*



## ROZDZIAŁ 1

Aneta Brodziak, Jolanta Król, Joanna Barłowska, Anna Teter,  
Wioletta Sawicka-Zugaj, Monika Kędzierska-Matysek,  
Barbara Topyła, Małgorzata Ryszkowska-Siwko

# Technologie produkcji i przetwarzania mleka o podwyższonej zawartości składników bioaktywnych lub obniżające nadwrażliwość pokarmową

## Wstęp

Rosnące zainteresowanie mlekiem i jego poszczególnymi składnikami wynika ze składu chemicznego, a także działania biologicznego i właściwości funkcjonalnych związków w nim zawartych. W rozdziale omówiono ocenę wartości prozdrowotnej mleka i wytworzonych na jego bazie produktów mlecznych (fermentowanych – jogurtów i serów), jak również technologie produkcji i przetwarzania mleka ukierunkowane na podniesienie tej wartości prozdrowotnej. Na podstawie najnowszych doniesień literatury dokonano charakterystyki bioaktywnych składników mleka w kontekście profilaktyki chorób cywilizacyjnych. Przedstawiono również możliwości ograniczenia nietolerancji pokarmowej na składniki mleka. Wskazano, że doskonałym surowcem do przetwórstwa jest mleko pozyskiwane od krów ras lokalnych, utrzymywanych zazwyczaj w gospodarstwach stosujących tradycyjny system żywienia.

## Ocena wartości prozdrowotnej mleka i wytworzonych na jego bazie produktów mlecznych

Mleko jako surowiec w przetwórstwie mleczarskim musi charakteryzować się odpowiednią jakością mikrobiologiczną i cytologiczną, minimalnym poziomem zanieczyszczeń chemicznych i mechanicznych oraz właściwą przydatnością technologiczną. Jednakże w ostatnich latach konsumenci są coraz bardziej świadomi i wymagający, dlatego też poszukują na rynku produktów mlecznych z wartością dodaną, czyli np. zawierających związki biologicznie aktywne o pozytywnym wpływie na organizm człowieka, nawet za większą cenę. Kate-



gorią, która charakteryzuje się największą innowacyjnością, są produkty fermentowane, w tym głównie jogurty.

Pod względem chemicznym mleko stanowi emulsję tłuszczową w wodnym roztworze połączoną laktozą, składnikami mineralnymi i białkami [Bekere i Husen 2020]. W poszczególnych jego frakcjach występują liczne związki biologicznie aktywne, do identyfikacji i oceny zawartości których stosuje się różnorodne techniki analityczne.

## **Tłuszcz mleczny**

Tłuszcz mleczny to kompozycja ponad 500 różnej długości kwasów tłuszczowych (ang. fatty acids, FA). W mleku i produktach mlecznych najczęściej oceniany jest skład kwasów tłuszczowych. W głównej mierze są to kwasy nasycone (ang. saturated fatty acids, SFA), budzące największy niepokój wśród konsumentów. W dalszej kolejności w skład kwasów tłuszczowych mleka wchodzi jednonienasycone (ang. monounsaturated fatty acids, MUFA) i wielonienasycone (ang. polyunsaturated fatty acids, PUFA) kwasy tłuszczowe, odpowiadające za dużą różnorodność samego profilu. Ich udział zmienia się w surowcu przede wszystkim w zależności od gatunku czy rasy zwierząt, systemu produkcji, sezonu produkcji, fazy laktacji czy też innych czynników [Barłowska i in. 2005, Barłowska i in. 2006, Kuczyńska 2011, Barłowska i in. 2012a, Kirchnerová i in. 2013, Brodziak i in. 2015, Mitani i in. 2015, Ruiz i in. 2016, De La Tore-Santos i in. 2020]. W przetwórstwie obróbka cieplna (proces pasteryzacji czy UHT) wpływa na zmianę profilu lipidowego mleka przerobowego, a w związku z tym również produktów mlecznych [Xu i in. 2020]. Ważne jest zatem, aby monitorować ich ilość w mleku i produktach mlecznych.

Do określenia składu kwasów tłuszczowych wykorzystywana jest technika chromatografii gazowej (ang. gas chromatography, GC). Jest to fizykochemiczna metoda rozdzielania, w której składniki rozdzielane poruszają się z gazem w określonym kierunku. Różny podział składników mieszaniny w kolumnie pomiędzy 2 fazy (fazę stacjonarną stanowiącą wypełnienie kolumny i fazę ruchomą – gaz) powoduje zróżnicowanie prędkości migracji i rozdzielanie składników. Do ich detekcji wykorzystywany jest najczęściej detektor płomieniowo-jonizacyjny (ang. flame ionization detector, FID). Jego działanie polega na jonizacji cząsteczek w płomieniu oraz rejestracji zmian potencjału. Coraz częściej w tym obszarze wykorzystywana jest również chromatografia gazowa sprzężona ze spektrometrią mas (GC-MS) [Witkiewicz i Wardencki 2018].

W tabeli 1 przedstawiono przykładową zawartość kwasów tłuszczowych w mleku krowim i serach z uwzględnieniem systemu produkcji. Mleko produkowane w systemie ekologicznym i tradycyjnym charakteryzuje się wyższą zawartością nienasyconych kwasów tłuszczowych (UFA – ang. unsaturated fatty acids, MUFA i PUFA, w tym CLA – ang. conjugated linoleic acid) w tłuszczu mleka, co wskazuje na jego wyższą jakość prozdrowotną [Brodziak i in. 2021c].

Ocenie poddawane są także produkty mleczne – sery, w tym twarogi, masło, śmietana czy jogurty, z uwzględnieniem okresu przechowywania [Bergamo i in. 2003, Florence i in. 2009, Butler i in. 2008, Pietrzak-Fiećko i in. 2017, Paszczyk i Łuczyńska 2018, Dopieralska i in. 2020, Kawęcka i in. 2020]. Objęte badaniami produkty charakteryzowały się zróżnicowanym składem poszczególnych grup kwasów tłuszczowych. W tłuszczu wszystkich badanych produktów stwierdzono obecność izomerów trans kwasu C18:1 i C18:2. Stwierdzono, że lokalne produkty mleczne mogą być cennym źródłem zarówno krótko-, jak i średniołańcuchowych kwasów tłuszczowych, a także CLA.

Tabela 1. Zawartość kwasów tłuszczowych w mleku krowim i w serach z różnych praktyk produkcyjnych [Brodziak i in. 2021c]

Kwas tłuszczowy/grupa	Mleko			Sery	
	system ekologiczny (%)	system tradycyjny (oparty na pastwisku) (%)	system intensywny (TMR) (%)	system tradycyjny (oparty na pastwisku) (g/100 g of FA)	system intensywny (TMR) (g/100 g of FA)
Nasycone kwasy tłuszczowe (SFA)	66,28	59,03–64,74	67,69–71,41	64,61–67,47	70,71–71,72
Jednonienasycone kwasy tłuszczowe (MUFA)	26,11–34,07	30,33–32,16	21,87–28,15	28,22–31,71	25,58–27,13
Kwas oleinowy (c9 C18:1)	b.d.	16,10–22,66	16,16–17,20	22,48–24,00	21,13–21,49
Kwas walcenowy (t11 C18:1)	b.d.	1,18–7,00	0,80–2,00	0,83	0,46
Wielonienasycone kwasy tłuszczowe (PUFA)	3,85–5,36	3,69–5,32	1,65–3,77	3,68–4,31	3,71
Kwas eikozapentaenowy (EPA, C20:5 n-3)	b.d.	0,08	0,05	b.d.	b.d.
Sprzężony kwas linolowy (CLA, cis-9 trans-11)	0,83–1,53	0,54–0,93	0,42–1,19	1,12–1,53	0,36–0,46
Kwas linolowy (LA, C18:2 n-6)	b.d.	1,17–2,18	1,4–2,39	2,53	2,04
Kwas α-linolenowy (ALA, C18:3 n-3)	b.d.	0,49–1,25	0,39–0,42	0,98–1,21	0,41–0,67
Kwas γ-linolenowy (GLA, C18:3 n-6)	b.d.	0,13	0,12	0,18	0,13
Stosunek 18:3n3 : 18:3n6	b.d.	0,60–2,77	1,26	0,72	0,62

Skróty: FA – kwasy tłuszczowe; b.d. – brak danych

Z technologicznego punktu widzenia zmiany ilości tłuszczu oraz profilu kwasów tłuszczowych w mleku i mlecznych produktach fermentowanych mają znaczący wpływ na przydatność oraz efektywność ich przetwórstwa [Dunshea i in. 2019]. Dlatego też poszerzanie metod analitycznych z zakresu badań składu oraz zmian profilu kwasów tłuszczowych mleka z różnych systemów produkcji może stanowić wartość dodaną w przypadku gotowych produktów w sprzedaży detalicznej. Nadal jednak trwają prace nad ulepszeniem składu kwasów tłuszczowych mleka oraz produktów z niego pozyskiwanych, tak, aby były jak najbardziej atrakcyjne dla kupujących, również w kontekście ich zdrowia. Głównie dotyczy to obniżenia ilości nasyconych kwasów tłuszczowych (SFA) oraz zwiększenia ilości wielonienasyconych kwasów tłuszczowych z grupy n-3 [Hanus i in. 2018].

## **Składniki mineralne**

Mleko i produkty mleczne stanowią dobre źródło składników mineralnych, takich jak wapń, potas, cynk, selen, fosfor i magnez [Barłowska i in. 2013, Litwińczuk i in. 2018]. Do oznaczania pierwiastków, w tym metali ciężkich, wykorzystywana jest metoda atomowej spektrometrii absorpcyjnej (ASA). Zasada pomiaru opiera się na zjawisku absorpcji promieniowania o specyficznej długości fali przez wolne atomy pierwiastka. Próbkę należy przed oznaczeniem odpowiednio przygotować. W tym celu przeprowadzana jest mineralizacja, która polega na rozkładzie i utlenieniu związków organicznych zawartych w próbce i przeprowadzeniu pozostałych składników do roztworu. Główne sposoby mineralizacji to mineralizacja na sucho oraz na mokro, a także mineralizacja ciśnieniowa wspomaganą energią mikrofalową.

Największe zmiany w zawartości składników mineralnych w mleku determinowane są czynnikami środowiskowymi, w tym systemem żywienia krów. Zawartość składników mineralnych w mleku uzależniona jest głównie od ich stężenia w paszach, a ta od lokalnych warunków glebowo-klimatycznych oraz zakresu stosowania dodatków mineralno-witaminowych w żywieniu krów [Gabryszuk i in. 2013, Litwińczuk i in. 2018]. Do czynników wpływających na skład mineralny gleby oraz pastwisk należą: stosowane nawozy, ilość powstających osadów ściekowych, rodzaj gleby czy bliskość terenów górniczych i przemysłowych [Schwendel i in. 2015]. W rolnictwie konwencjonalnym możliwe jest podnoszenie żyzności gleby dzięki używaniu nawozów mineralnych wzbogacanych w wybrane mikroelementy. Ponadto stosuje się suplementację dawki pokarmowej krów mieszankami mineralnymi. Obie wymienione metody są ograniczone w rolnictwie ekologicznym.

W tabeli 2 zamieszczono porównanie zawartości składników mineralnych z różnych praktyk produkcyjnych. Cenniejszym ich źródłem okazał się surowiec z produkcji konwencjonalnej (z wyjątkiem potasu) [Rey-Crespo i in. 2013, Schwendel i in. 2015, Litwińczuk i in. 2018, Walther i in. 2018, Król i in. 2020].

Tabela 2. Porównanie zawartości składników mineralnych (mg/l) w mleku z różnych praktyk produkcyjnych [Brodziak i in. 2021c]

Pierwiastek	Mleko z produkcji konwencjonalnej	Mleko z produkcji ekologicznej
K	1844,37	1896,92
Ca	1404,70–1417,76	971,33
Na	476,35	366,59
Mg	113,87–118,50	86,21
Zn	2,96–4,39	2,86–3,96
Fe	0,34–0,47	0,32–0,67
Mn	0,022–0,139	0,023–0,047
Cu	0,038–0,161	0,023–0,084
I	0,071–6,540	0,013–0,283
Se	0,008–0,040	0,002–0,020
Co	0,001	0,001
Sr	0,202	0,166

Tabela 3. Porównanie zawartości składników mineralnych (mg/l) w mleku z różnych praktyk produkcyjnych [Król i in. 2010a]

Pierwiastek		System tradycyjny			System intensywny		
		lato	zima	ogółem	lato	zima	ogółem
Wapń (Ca)	$\bar{x}$	1195,2*	972,3*	<b>1059,7<sup>b</sup></b>	937,5	930,6	<b>934,5<sup>a</sup></b>
	SD	121,3	102,3	120,8	99,5	102,6	100,9
Magnez (Mg)	$\bar{x}$	145,6	133,8	<b>139,2<sup>b</sup></b>	120,3	114,5	<b>116,8<sup>a</sup></b>
	SD	33,2	30,8	34,6	29,8	38,5	27,8
Potas (K)	$\bar{x}$	1082,6	1114,2	1099,5	1187,2	1099,3	1159,5
	SD	256,6	268,7	303,5	286,3	312,5	287,2
Sód (Na)	$\bar{x}$	358,6*	395,3*	<b>377,4<sup>a</sup></b>	428,6	420,8	<b>424,3<sup>b</sup></b>
	SD	99,8	86,3	92,8	100,3	99,6	103,5
Cynk (Zn)	$\bar{x}$	3,52	3,41	<b>3,47<sup>a</sup></b>	5,15	4,68	<b>4,98<sup>b</sup></b>
	SD	0,89	1,00	0,93	1,23	0,98	1,11
Żelazo (Fe)	$\bar{x}$	0,371*	0,243*	0,311	0,250	0,208	0,231
	SD	0,098	0,106	0,113	0,086	0,097	0,100
Miedź (Cu)	$\bar{x}$	0,066	0,034	<b>0,051<sup>B</sup></b>	0,032	0,029	<b>0,030<sup>A</sup></b>
	SD	0,023	0,019	0,027	0,018	0,016	0,018
Mangan (Mn)	$\bar{x}$	0,032*	0,071*	<b>0,051<sup>A</sup></b>	0,089	0,095	<b>0,093<sup>B</sup></b>
	SD	0,012	0,034	0,021	0,038	0,044	0,46
Ołów (Pb)	$\bar{x}$	0,0073	0,0085	<b>0,0081<sup>a</sup></b>	0,0099	0,0130	<b>0,0110<sup>b</sup></b>
	SD	0,0042	0,0063	0,0061	0,0056	0,0068	0,0062
Kadm (Cd)	$\bar{x}$	0,0048*	0,0030*	<b>0,0039<sup>A</sup></b>	0,0073	0,0068	<b>0,0071<sup>B</sup></b>
	SD	0,0031	0,0028	0,0021	0,0029	0,0031	0,0030

a, b, A, B – różnice pomiędzy grupami: a, b – różnice istotne przy  $P \leq 0,05$ ; A, B – różnice istotne przy  $P \leq 0,01$ ;  
\* – różnice w grupie pomiędzy sezonami; istotne przy  $P \leq 0,05$

Litwińczuk i in. [2018] najwięcej składników mineralnych zaobserwowali w mleku, które pochodziło z gospodarstw, gdzie krowy karmione były tradycyjnie (ekstensywnie). Najmniej Ca, Na, Mg, Zn i Fe zawierało mleko z systemu ekologicznego. Dla miedzi uzyskali wartości porównywalne. Najwyższą zawartość potasu wykazano zaś w mleku ekologicznym, co może być związane ze stosunkowo dużą ilością tego pierwiastka w paszach z użytków zielonych. W przypadku jodu i seleniu znacznie niższe stężenie uzyskano w mleku ekologicznym w porównaniu z konwencjonalnym od krów karmionych koncentratem.

W tabeli 3 przedstawiono z kolei zawartość składników mineralnych w zależności nie tylko od systemu produkcji, ale także od sezonu. Mleko produkowane systemem tradycyjnym okazało się bogatszym źródłem wapnia i magnezu oraz żelaza i miedzi. Wyniki te potwierdziły się w obu analizowanych sezonach, przy czym istotnie wyższe stężenia tych pierwiastków stwierdzono w okresie letnim, gdy zwierzęta korzystały z pastwiska. Mleko produkowane systemem intensywnym charakteryzowało się natomiast wyższą zawartością potasu, sodu, cynku i manganu. Większe średnie stężenie ołowiu i kadmu stwierdzono w mleku krów utrzymywanych systemem intensywnym [Król i in. 2010a].

Analiza zawartości składników mineralnych w twarogach, której dokonali Król i in. [2018], nie wykazała wpływu ani rasy, ani sezonu produkcji. Należy jednak zauważyć, że twarogi okazały się gorszym źródłem składników mineralnych niż mleko, z którego zostały wyprodukowane. Wpływ sezonu produkcji na zawartość wapnia w serach wykazali jednak autorzy w innych badaniach [Król i in. 2020]. Kawęcka i in. [2020] wskazali natomiast, że sery tradycyjne (wpisane na listę polskich produktów tradycyjnych) produkowane z mleka krowiego (gołka) okazały się uboższym źródłem nie tylko magnezu i wapnia, ale także suchej masy, tłuszczu i PUFA w porównaniu z serami z mleka owczego (oscypka).

## Witaminy

Mleko krowie oraz produkty z niego wytwarzane uznawane są za cenne źródło witamin w diecie człowieka, takich jak: witamina A (retinol), witamina D<sub>3</sub> (cholecalciferol), witamina E ( tokoferol), witamina K<sub>2</sub> (menachinon) oraz β-karoten (prowitamina A) [Kalač 2011, Stergiadis i in. 2014, Ferreiro i in. 2015, Puppel i in. 2017, Brodziak i in. 2018a, Górską-Warsewicz i in. 2019, Król i in. 2020].

Do analizy jakościowej i ilościowej witamin wykorzystywana jest technika chromatografii cieczowej (ang. liquid chromatography, LC). Chromatografia cieczowa jest fizykochemiczną metodą rozdzielania, w której składniki rozdzielane poruszają się z cieczą (rozpuszczalnikiem) w określonym kierunku. Różny podział składników mieszaniny w kolumnie pomiędzy dwie fazy (fazę stacjonarną stanowiącą wypełnienie kolumny i fazę ruchomą – ciecz) powoduje różnicowanie prędkości migracji i rozdzielenie składników. Do ich detekcji wykorzystywany jest najczęściej detektor DAD (ang. diode array detector), UV lub UV-VIS, ale także fluorescencyjny (ang. fluorescence detector, FLD). Coraz

częściej w tym obszarze wykorzystywana jest również chromatografia cieczowa sprzężona ze spektrometrią mas (LC-MS) [Witkiewicz i in. 2019].

Zawartość witamin w surowcu w dużej mierze różni się w zależności od systemu produkcji, a dokładniej – rodzaju podawanej paszy [Kuczyńska 2011, Kuczyńska i in. 2012, Puppel i in. 2017, Brodziak i in. 2018a]. Świeża ruń pastwiskowa oraz kiszonki z porostu łąkowego, roślin motylkowatych i mieszanek roślin motylkowatych z trawami charakteryzują się wyższą zawartością witaminy E i prowitaminy A ( $\beta$ -karotenu) w porównaniu z paszami konserwowanymi [Sakowski i in. 2012, Ferreira i in. 2015]. Kuczyńska [2011] w swoich doniesieniach stwierdziła większą zawartość witamin E i D<sub>3</sub>, a mniejszą  $\beta$ -karotenu w mleku krów z gospodarstw ekologicznych w porównaniu z konwencjonalnymi. Kalač [2011] zwrócił uwagę, że jeśli kiszonki są źle przygotowane, to zarówno  $\alpha$ -tokoferol, jak i  $\beta$ -karoten mogą ulec w znacznym stopniu rozkładowi, co spowoduje zmniejszenie pożądanej zawartości składników funkcjonalnych. Havemose i in. [2004] w swoich badaniach wykazali, że karmienie krów kiszonką z traw znacznie zwiększa ilość przeciwutleniaczy w mleku w porównaniu z ich ilością w mleku krów karmionych kiszonkami z kukurydzy. Natomiast Leiber i in. [2005] wykazali, że krowy pasące się na bardzo dobrych i zróżnicowanych pastwiskach produkują mleko zawierające o 86% więcej witaminy E niż krowy karmione paszami konserwowanymi o wysokim udziale pasz treściwych. Kuczyńska i in. [2012], Król i in. [2017], Puppel i in. [2017], Brodziak i in. [2018a, 2020] analizowały również zawartość witaminy D<sub>3</sub> w mleku. W przypadku zwierząt przebywających na pastwisku promienie ultrafioletowe (UV) pochodzące ze światła słonecznego indukują syntezę witaminy D<sub>3</sub> z 7-dehydrosterolu obecnego w skórze.

Tabela 4. Zawartość wybranych witamin w surowym mleku krowim z różnych praktyk produkcyjnych i w wybranych produktach – jogurtach naturalnych i serach twarogowych [Król i in. 2020, Brodziak i in. 2021c]

Witaminy	Mleko surowe			Jogurt naturalny	Ser twarogowy*	
	system ekologiczny	system tradycyjny	system intensywny	system ekologiczny	system tradycyjny	system intensywny
A (mg/l)	0,468–0,800	0,410–0,556	0,347–0,465	0,352–0,408	1,380	1,219
D <sub>3</sub> ( $\mu$ g/l)	0,461–0,768	0,610–1,212	0,589–0,700	0,556–0,638	1,882	1,451
E (mg/l)	1,358–2,655	1,656–1,953	1,075–1,302	1,649–1,709	3,520	3,255
$\beta$ -karoten (mg/l)	0,195–0,580	0,231–0,252	0,175–0,190	0,222–0,231	–	–

\* ser odpowiednio: mg/kg lub  $\mu$ g/kg

W tabeli 4 przedstawiono zawartość wybranych witamin w surowym mleku krowim z różnych praktyk produkcyjnych i w wybranych produktach – jogurtach naturalnych i serach twarogowych [Bergamo i in. 2003, Butler i in. 2008, Kuczyńska i in. 2011, Brodziak i in. 2018a, Król i in. 2020, Brodziak i in. 2021a].

Przedmiotem niektórych badań jest także zawartość witamin w produktach mlecznych. Bergamo i in. [2003] uzyskali istotnie ( $P < 0,05$ ) wyższe stężenie  $\alpha$ -tokoferolu (witaminy E) w ekologicznym mleku bawolim i serze mozzarella w porównaniu z konwencjonalnymi. Jak podali Król i in. [2020], ser twarogowy z mleka krów rasy simentalskiej miał wyższą zawartość witaminy A niż ser z mleka krów rasy holsztyńsko-fryzyjskiej. Generalnie twarogi produkowane w systemie tradycyjnym i/lub wiosną i latem były bogatszym źródłem witamin, głównie witaminy A. Natomiast Brodziak i in. [2021a] stwierdzili, że jogurty wyprodukowane na bazie mleka zbiorczego pochodzącego bezpośrednio z gospodarstw charakteryzowały się większą wartością odżywczą i wyższą zawartością bioaktywnych witamin lipofilnych niż produkty na bazie mleka pasteryzowanego zakupionego w sklepie. Zawierały one  $\beta$ -karoten – 0,231 mg/l ( $P \leq 0,05$ ), witaminę A – 0,408 mg/l ( $P \leq 0,01$ ), witaminę D<sub>3</sub> – 0,638  $\mu$ g/l ( $P \leq 0,01$ ) oraz witaminę E – 1,709 mg/l ( $P \leq 0,05$ ). Istotny okazał się także wpływ sezonu produkcji, na korzyść wiosenno-letniego.

## **Białka serwatkowe**

Ocena zawartości w mleku krowim białek serwatkowych, a także aminokwasów stanowi podstawę wielu prac, w przeciwieństwie do analiz peptydów. Niewiele jest prac z tego zakresu poświęconych produktom mlecznym. Do oznaczania zawartości białek serwatkowych, ale również aminokwasów i peptydów, wykorzystywana jest także technika chromatografii cieczowej.

Król i in. [2011a] wykazali, że istotnie więcej białek serwatkowych zawierało mleko krów rasy simentalskiej i uzyskana z tego mleka serwatka w porównaniu z innymi ocenianymi rasami (polska holsztyńsko-fryzyjska i jersey). Brodziak i in. [2018a], na podstawie badań przeprowadzonych na mleku krów rasy simentalskiej utrzymywanych w różnych systemach produkcji, wskazali na brak wpływu systemu produkcji na zawartość białek serwatkowych w mleku ogółem (0,72 g/l w systemie tradycyjnym i ekologicznym vs. 0,70 g/l w systemie intensywnym), przy czym zależność ta okazała się statystycznie istotna w przypadku pojedynczych analizowanych białek, tj.  $\beta$ -laktoglobuliny ( $p = 0,001$ ),  $\alpha$ -laktoalbuminy ( $p = 0,071$ ), krowiej albuminy serum ( $p = 0,016$ ), laktoferyny ( $p = 0,001$ ) i lizozymu ( $p = 0,001$ ). Mleko pozyskiwane z gospodarstw niskonakładowych (stosujących system ekologiczny i tradycyjny) charakteryzowało się wyższą zawartością tych białek serwatkowych w porównaniu z mlekiem z gospodarstw utrzymywanych w systemie intensywnym (system PMR). W szczególności dotyczyło to laktoferyny i lizozymu. Podobne zależności uzyskała Za-



gorska [2007], wskazując na prawie 2-krotnie wyższe stężenie laktoferyny w mleku produkowanym systemem ekologicznym w porównaniu z TMR. Badając zawartość głównych białek serwatkowych – albumin, Mackle i in. [1999] odnotowali obniżenie ich zawartości w mleku krów żywionych ograniczoną ilością zielonki (system intensywny) w porównaniu ze zwierzętami otrzymującymi dodatkowo pasze treściwe (system tradycyjny i ekologiczny).

Brodziak i in. [2021c], na podstawie kilku prac [Kuczyńska 2011, Król i in. 2017, Brodziak i in. 2018a, Brodziak i in. 2020, Brodziak i in. 2021a], dokonali zestawienia zawartości białek serwatkowych w mleku krowim z różnych praktyk produkcyjnych i w jogurtach naturalnych (tab. 5).

Tabela 5. Zawartość białek serwatkowych w mleku krowim z różnych praktyk produkcyjnych i w jogurcie naturalnym [Brodziak i in. 2021c]

Białka serwatkowe	Mleko surowe			Jogurt naturalny
	system ekologiczny	system tradycyjny	system intensywny	system ekologiczny
β-laktoglobulina (g/l)	3,32–3,35	3,26–3,58	3,01–3,28	0,65–1,57
α-laktoalbumina (g/l)	1,07–1,19	1,05–1,21	0,98–1,14	0,75–0,77
Bydlęca albumina serum (g/l)	0,43	0,44	0,41–0,49	0,40–0,41
Laktoferyna (mg/l)	123,8–125,9	109,80–130,62	94,01–121,23	22,19–35,08
Lizozym (μg/l)	11,14	9,92–10,71	6,90–12,13	3,15–3,39

Niewielu autorów zajmuje się oceną zawartości białek serwatkowych w produktach mlecznych. Brodziak i in. [2018b] podjęli się oceny zawartości wybranych, niezdenaturowanych białek serwatkowych w jogurtach naturalnych wytworzonych na bazie ekologicznego mleka pozyskanego od krów rasy simentalskiej. Produkty charakteryzowały się zawartością niezdenaturowanej α-laktoalbuminy w ilości 0,72 g/l, β-laktoglobuliny – 0,74 g/l i laktoferyny – 35,08 mg/l. W innych badaniach autorów [Brodziak i in. 2021a] produkty uzyskane w okresie wiosenno-letnim cechowały się większą zawartością bioaktywnych białek serwatkowych, z wyjątkiem β-laktoglobuliny. Należy w tym miejscu wspomnieć, że w czasie ogrzewania surowca ilość białek serwatkowych zmniejsza się, ponieważ dochodzi do ich częściowej denaturacji – głównie dotyczy to β-laktoglobuliny i albuminy serum [Sakkas i in. 2014]. Dowodzą tego także wyniki badań Ruprichová i in. [2014] przeprowadzonych na jogurtach komercyjnych, wskazujące, że β-laktoglobulina była najbardziej niestabilnym termicznie białkiem. Jak podali Sakkas i in. [2014], zawartość niezdenaturowanych białek serwatkowych może być jednym z chemicznych wskaźników służących do oceny obciążenia cieplnego, jakie otrzymało mleko w czasie obróbki.

## Zdolność przeciwutleniająca

Zdolność przeciwutleniająca mleka i produktów mlecznych wynika głównie z obecności aminokwasów zawierających siarkę (m.in. cysteina), kazeiny, białek serwatkowych, fosforanów, witaminy A, E i C, karotenoidów, cynku, selenu, dysmutazy nadadtlenkowej, katalazy, peroksydazy glutationowej, oligosacharydów i peptydów mleka, które są produkowane podczas fermentacji i dojrzewania sera. Aktywność przeciwutleniającą mleka i produktów mlecznych można zwiększyć poprzez dodatek surowców roślinnych lub związków bioaktywnych z nich wyizolowanych. Żywność bogata w antyoksydanty lub suplementy antyoksydacyjne dodane do żywności może chronić organizm przed stresem oksydacyjnym i uszkodzeniami komórek.

W pomiarze ogólnej aktywności przeciwutleniającej żywności, w tym mleka i produktów na jego bazie, stosowane są testy zdolności przeciwutleniającej. Można je podzielić na testy oparte na transferze atomu wodoru i testy oparte na transferze elektronu. Do charakteryzowania zdolności antyoksydacyjnych mleka i produktów mlecznych stosowane jest oznaczanie całkowitego statusu antyoksydacyjnego (ang. total antioxidative status, TAS), wolnych rodników tlenu azotu, całkowitej zawartości fenoli, zawartości flawonoidów, wolnych rodników DPPH (2,2-difenylo-1-pikrylohydrazyl), hamowania utleniania kwasu linolenowego i całkowitej zdolności redukcyjnej [Chen i in. 2003]. Kapusta i in. [2018] wykazali, że w mleku poziomy TAS i malonyldialdehydu (MDA) – będącego wskaźnikiem procesów peroksydacji lipidów, są zwykle ujemnie skorelowane, tj. gdy wzrasta peroksydacja lipidów (MDA), potencjał antyoksydacyjny (TAS) maleje. Najniższy poziom MDA (w zakresie 18–28 nM/ml) wiązał się z najwyższym stężeniem witaminy E,  $\beta$ -karotenu, całkowitym statusem antyoksydacyjnym (TAS) i stopniem ochrony antyoksydacyjnej – DAP (ang. degree of antioxidant protection) w mleku.

Właściwości przeciwutleniające niektórych produktów mlecznych przedstawiono w tabeli 6.

Warto podkreślić, że fermentowane produkty mleczne mają wyższą zdolność przeciwutleniającą w porównaniu z niefermentowanymi produktami mlecznymi. Haug i in. [1987] wykazali, że podczas półrocznego okresu dojrzewania sera wytworzyły się peptydy o aktywności przeciwutleniającej. W końcowym okresie przechowywania aktywność przeciwutleniająca w stosunku do wolnych rodników 2,2-difenylo-1-pikrylohydrazylu (DPPH) wynosiła 98%. Balakrishnan i Agrawal [2014] stwierdzili, że właściwości przeciwutleniające jogurtu mogą zostać wzmocnione dzięki zastosowaniu bakterii probiotycznych. Najgebauer-Lejko i in. [2014] dodali natomiast do jogurtów marchewkę, dynię, brokuła i czerwoną słodką paprykę w ilości 10%, a następnie przeprowadzili testy FRAP (ang. ferric reducing ability of plasma) i DPPH na aktywność antyoksydacyjną w okresie przechowywania przez 14 dni. Jogurty z dodatkiem brokuła i czerwonej słodkiej papryki wykazały wyższą aktywność DPPH zmiatania wolnych rodników i FRAP. Jednak aktywność antyoksydacyjna zmniejszyła się w okresie

Tabela 6. Przykłady modyfikowania właściwości przeciwutleniających niektórych produktów mlecznych [opracowanie własne na podstawie: Khan i in. 2019]

Badania	Rezultaty
Ocena wpływu wypasu na właściwości antyoksydacyjne mleka	wypas poprawiał całkowitą pojemność antyoksydacyjną mleka
Dodatek <i>Zingiber officinale</i> i <i>Beta vulgaris</i> do mleka w celu produkcji jogurtu	dodatek poprawił aktywność DPPH i FRAP w jogurtach
Porównanie właściwości antyoksydacyjnych różnych produktów fermentowanych (jogurtu, kefiru, mleka acidofilnego, maślanki)	największą aktywnością antyoksydacyjną charakteryzował się jogurt i kefir; obecność w produkcie probiotycznych szczepów <i>Lactobacillus casei</i> pozytywnie wpłynęła na działanie antyoksydacyjne FRAP
Ocena wpływu <i>Lactobacillus delbrueckii</i> sp. <i>bulgaricus</i> , <i>Lactobacillus rhamnosus</i> , <i>Streptococcus thermophilus</i> , <i>Lactobacillus delbrueckii</i> i <i>Lactobacillus fermentum</i> na zdolność antyoksydacyjną mleka i serwatki	szczone bakterijne poprawiły aktywność wymiatania wolnych rodników DPPH, hamowanie anionów ponadtlenkowych, utlenianie lipidów i zmniejszanie miażdżycy u ludzi
Ocena właściwości przeciwutleniających lodów, w których częściowo zastąpiono sacharozę sokiem z trzciny cukrowej	dodatek soku z trzciny cukrowej do lodów zwiększył całkowitą zawartość fenoli, aktywność wymiatania wolnych rodników (DPPH), aktywność wymiatania wolnych rodników tlenku azotu oraz całkowitą zdolność antyoksydacyjną (TAS) lodów
Dodatek do sera gouda oleju z mango ( <i>Mangifera indica</i> L.) w celu poprawy właściwości przeciwutleniających	suplementacja olejem z pestek mango zwiększyła całkowitą zawartość fenoli, aktywność wymiatania wolnych rodników (DPPH), aktywność wymiatania wolnych rodników tlenku azotu oraz zahamowała utlenianie lipidów

14-dniowego przechowywania. Aktywność przeciwutleniająca mleka i produktów mlecznych determinowana jest wpływem wielu czynników i może być modyfikowana.

## Bioaktywne składniki mleka a profilaktyka chorób cywilizacyjnych

Choroby cywilizacyjne są jednym z największych problemów zdrowotnych zarówno w państwach wysoko rozwiniętych, jak i w krajach szybko rozwijających się, w tym także w Polsce. Badania naukowe wskazują, iż głównie styl życia, w tym nieracjonalna dieta, stres, czy brak aktywności fizycznej prowadzą do zwiększenia ryzyka zapadalności na choroby cywilizacyjne. Szczególne znaczenie w aspekcie profilaktyki chorób cywilizacyjnych ma odpowiednia dieta, bogata w składniki o udokumentowanym prozdrowotnym wpływie na organizm człowieka. Podstawowymi składnikami diety człowieka na całym świecie są mleko i produkty mleczne. Odgrywają one ważną rolę w żywieniu człowieka,

ponieważ dostarczają nie tylko niezbędnych składników odżywczych, ale także są ważnym źródłem bioaktywnych składników, które mają decydujący wpływ na metabolizm i zdrowie człowieka. Uważane są za potencjalne składniki do produkcji prozdrowotnej żywności funkcjonalnej [Haug i in. 2007, Drewnowski 2011, Mills i in. 2011, Żulewska 2013].

## **Białka**

Białka mleka i produkty ich rozkładu, oprócz swojej oczywistej wartości odżywczej, spełniają liczne funkcje biologiczne. Głównym białkiem mleka, stanowiącym ok. 80% białka ogólnego, jest kazeina. Od 20% do 25% białek mleka krowiego stanowią białka serwatkowe, spośród których należy wymienić albuminy ( $\alpha$ -laktoalbuminę,  $\beta$ -laktoglobulinę oraz krowią albuminę serum), immunoglobuliny, protezoptyony, a także glikomakropeptydy, laktoferynę, czynniki wzrostowe, hormony i liczne enzymy – w tym lizozym [Król i in. 2011b]. Kazeina jest białkiem najbardziej przydatnym do syntezy hemoglobiny i białek osocza krwi w organizmie ssaków. Uczestniczy w koncentrowaniu, stabilizowaniu i dostarczaniu pierwiastków, głównie wapnia i fosforu. Ważną jej funkcją jest wspomaganie trawienia i niedopuszczanie do zalegania treści pokarmowej w żołądku. Działa łagodząco w przypadku kolki jelitowej u niemowląt oraz ochronnie w cukrzycy czy nowotworach. Co więcej, uczestniczy w hamowaniu rozwoju próchnicy, naczyniowego wola tarczycowego oraz ubytku tkanki kostnej [Haque i in. 2010, Barłowska i in. 2011].

Białka serwatkowe w porównaniu z kazeiną charakteryzują się wyższą o ok. 40% wartością biologiczną [Smithers 2008, Chatterton i in. 2013]. Wykazują szereg właściwości prozdrowotnych dla organizmu człowieka, wpływając na różnorodne procesy biologiczne i pracę narządów (tab. 7). Poprzez działanie na proces metylacji DNA powodują jego większą stabilność. Szczególną rolę odgrywa  $\beta$ -laktoglobulina, która posiada zdolność przyłączania heterocyklicznych amin, które są bardzo niebezpiecznymi związkami rakotwórczymi [Król i in. 2011b]. Zapobiega przede wszystkim powstawaniu nowotworów jelita grubego. Właściwości antynowotworowe wykazuje również laktoferyna, głównie wobec komórek raka czerniaka, okrężnicy, pęcherza moczowego i płuc [Artym 2016]. Redukuje występowanie tych nowotworów za pomocą lizy komórek oraz poprzez uszkodzenie błony komórek nowotworowych. Oprócz tych działań możemy również wyróżnić hamowanie angiogenezy w obrębie guzów oraz przyłączanie żelaza, które jest niezbędne do wzrostu komórek nowotworowych charakteryzujących się szybkim wzrostem. Pobudza ona układ immunologiczny do walki z nowotworem oraz zapobiega powstawaniu przerzutów [Zimecki i Artym 2005]. Właściwości antykancerogenne wykazuje również  $\alpha$ -laktoalbumina, białko to towarzyszy apoptozie i przekształcaniu linii komórek nowotworowych. Spełnia w organizmie również funkcje transportowe jako nośnik niektórych jonów metali, a przede wszystkim wapnia. Z uwagi na znaczne ilości tryptofanu

(prekursor serotoniny)  $\alpha$ -laktoalbumina wpływa na poprawę naszego nastroju, zmniejsza uczucie lęku oraz ułatwia funkcje poznawcze. U osób starszych ułatwia zasypianie. Chroni również organizm przed wrzodami żołądka spowodowanymi stresem lub nadmiernym spożywaniem alkoholu poprzez zwiększenie ilości prostaglandyn, które wpływają na zwiększenie sekrecji śluzu, a tym samym ochraniają śluzówkę żołądka [Brodziak i in. 2013].

Białka serwatkowe charakteryzują się najwyższym potencjałem antyoksydacyjnym w porównaniu z białkami innych produktów żywnościowych. Spowodowane jest to dużą zawartością aminokwasów siarkowych, szczególnie cysteiny, która jest niezbędna do syntezy glutationu [Yilmaz-Ersan i in. 2018]. Głównym antyoksydantem mleka jest  $\beta$ -laktoglobulina, która hamuje utlenianie tłuszczu mlekowego oraz zapobiega tworzeniu się wolnych rodników poprzez zawartość grup  $-SH$  [Król i in. 2011b]. Zdolności antyoksydacyjne posiada również laktoferyna, zapobiega powstawaniu wolnych rodników, reguluje produkcję i uwalnianie cytokin oraz czynnika martwicy nowotworów – TNF, wydzielanego przez makrofagi [Artym 2016].

Zawartość białek serwatkowych w diecie jest jednym z czynników warunkujących prawidłową odpowiedź immunologiczną organizmu. Bardzo ważną grupę tych białek stanowią immunoglobuliny, wspierające swoistą odporność humoralną organizmu. Na drodze wiązania antygenów, a także fagocytozy lub aktywacji układu dopełniacza biorą one udział w niszczeniu chorobotwórczych mikroorganizmów, zwłaszcza takich jak: *Escherichia coli*, *Candida albicans*, *Clostridium difficile*, *Shigella flexneri*, *Streptococcus mutans*, *Helicobacter pylori*. Znaczącą rolę w ochronie organizmu odgrywają również laktoferyna, laktoperoksydaza i lizozym. Stanowią one jedne z najważniejszych komponentów nieswoistych mechanizmów immunologicznych. Zarówno w gruczole mlecznym, jak i w przewodzie pokarmowym noworodków substancje te pełnią rolę naturalnego czynnika antybakteryjnego [Król i Brodziak 2015]. Laktoferyna hamuje wzrost bakterii Gram-ujemnych (*Escherichia coli*, *Shigella flexneri*, *Salmonella* spp. i *Pseudomonas* spp.) i Gram-dodatnich (*Listeria* spp., *Clostridium difficile*, *Staphylococcus* spp. i *Streptococcus* spp.) oraz grzybów. Dodatkową zaletą laktoferyny w walce z zakażeniami bakteryjnymi jest możliwość zwiększenia wrażliwości bakterii na niektóre antybiotyki (wankomycyna, penicylina) i obniżanie ich efektywnych dawek. Kombinacja penicyliny z laktoferyną podniosła 2-krotnie aktywność hamującą antybiotyku wobec *Staphylococcus aureus* [Diarra i in. 2002]. Laktoferyna wykazuje również działanie przeciwwirusowe, m.in. wirusa zapalenia wątroby typu B (HBV) i C (HCV) czy opryszczki (*Herpes simplex virus*) [Ishii i in. 2003, Małaczewska i Rotkiewicz 2007]. W ciągu ostatniego roku pojawiło się również wiele doniesień naukowych dotyczących możliwości, korzystnego wpływu laktoferyny na hamowanie rozwoju koronawirusów, w tym SARS-CoV-2 [Kell i in. 2020, Hu i in. 2021]. Badania nowozelandzkiego producenta farmaceutycznego Quantec wykazały, że kompleks białkowy zawierający laktoferynę i laktoperoksydazę, pozyskiwany ze świeżego pasteryzowanego mleka krowiego, może chronić ludzkie komórki przed COVID-19 [Quantec 2021]. Laktoperoksydaza dodatkowo inaktywuje wirusa

Tabela 7. Wpływ wybranych białek mleka na zdrowie człowieka [Zimecki i Artym 2005, Małaczewska i Rotkiewicz 2007, Pan i in. 2007, Smithers 2008, Górską i in. 2011, Chatterton i in. 2013, Hu i in. 2021]

Rodzaj białka	Aktywność biologiczna
Kazeina	<ul style="list-style-type: none"> <li>– zwiększa dostępność wapnia oraz fosforu</li> <li>– synteza hemoglobiny i białek osocza krwi</li> <li>– działanie przeciwnowotworowe</li> <li>– działanie opioidowe</li> <li>– obniża ciśnienie krwi</li> </ul>
$\beta$ -laktoglobulina	<ul style="list-style-type: none"> <li>– uczestniczy w wiązaniu, przenoszeniu i akumulacji związków rozpuszczalnych w tłuszczach, np. retinoidów, wolnych kwasów tłuszczowych czy witaminy D</li> <li>– zdolność przyłączania i transportu jonów sodu, wapnia czy nawet rtęci</li> <li>– właściwości antykancerogenne, przeciwwirusowe i przeciwbakteryjne</li> <li>– potencjalny antyoksydant</li> <li>– uczestniczy w kształtowaniu odporności biernej</li> <li>– prekursor bioaktywnych peptydów</li> </ul>
$\alpha$ -laktoalbumina	<ul style="list-style-type: none"> <li>– efektor syntezy laktozy w gruczole mlecznym</li> <li>– nośnik wapnia</li> <li>– działanie antynowotworowe</li> <li>– stymulowanie rozwoju pożądanej mikroflory jelitowej; aktywność zwłaszcza przeciwko bakteriom Gram-dodatnim</li> <li>– działanie przeciwwirusowe</li> <li>– czynnik immunologiczny, wpływa m.in. na wzrost odporności noworodków</li> <li>– prekursor bioaktywnych peptydów</li> </ul>
Albumina serum	<ul style="list-style-type: none"> <li>– uczestniczy w metabolizmie, wiązaniu i transporcie kwasów tłuszczowych i innych małych cząsteczek, w tym jonów metali (np. wapnia)</li> <li>– zapobieganie peroksydacji kwasów tłuszczowych</li> <li>– działanie przeciwnowotworowe, zwłaszcza w przypadku raka piersi i okrężnicy</li> <li>– prekursor bioaktywnych peptydów</li> </ul>
Immunoglobuliny	– specyficzna ochrona immunologiczna
Glikomakropeptyd	<ul style="list-style-type: none"> <li>– działanie antybakteryjne i przeciwzakrzepowe</li> <li>– regulator hormonów przewodu pokarmowego</li> </ul>
Laktoferyna	<ul style="list-style-type: none"> <li>– wiązanie jonów żelaza, wapnia, miedzi, glinu czy manganu</li> <li>– działanie bakteriobójcze i bakteriostatyczne</li> <li>– działanie antyoksydacyjne</li> <li>– działanie antynowotworowe</li> <li>– komponent narządowej odporności nieswoistej</li> <li>– regulator wzrostu komórek</li> <li>– działanie przeciwgrzybiczne</li> <li>– działanie przeciwwirusowe</li> <li>– działanie przeciw pasożytnicze</li> <li>– prekursor bioaktywnych peptydów</li> </ul>
Laktoperoksydaza	– działanie antybakteryjne
Lizozym	<ul style="list-style-type: none"> <li>– działanie antybakteryjne, efekt synergistyczny z immunoglobulinami, laktoferyną i laktoperoksydazą</li> <li>– komponent nieswoistych humoralnych mechanizmów immunologicznych</li> <li>– właściwości przeciwgrzybiczne</li> <li>– właściwości przeciwzapalne</li> <li>– działanie przeciwbólowe</li> </ul>

HIV 1 i polio [Seifu i in. 2005]. Lizozym jest przede wszystkim stosowany w terapiach zakażeń wirusowych i bakteryjnych, leczeniu chorób skórnych i nowotworowych, paradontozy, leukemii i chorób oczu [Król i in. 2011b]. Stanowi środek wspomagający działanie antybiotyków, dlatego też nazywany jest często antybiotykiem endogennym. Podawanie wcześniakom mleka wzbogaconego w lizozym wpływa korzystnie na ich rozwój i prowadzi do szybszego zwalczania infekcji [Zimecki i Artym 2005]. Lizozym oraz laktoperoksydaza są dodawane do mieszanek mlecznych dla niemowląt oraz produktów farmaceutycznych stosowanych w profilaktyce próchnicy zębów i leczeniu suchości jamy ustnej [Aimutis 2004].

## Peptydy

Według aktualnych poglądów każde białko oprócz podstawowych funkcji może pełnić rolę prekursora bioaktywnych peptydów. W układzie białek rodzimych peptydy te nie są aktywne. Uwalniane są z macierzystych białek w procesie trawienia, pod wpływem działania enzymów trawiennych lub w trakcie procesów technologicznych stosowanych w przemyśle mleczarskim [FitzGerald i in. 2020]. Wyizolowane peptydy pełnią liczne funkcje biologiczne, w tym: antyoksydacyjne, antymikrobiologiczne, antyamnezyjne, transportowe i opioidowe, ale są też inhibitorami enzymu konwertującego angiotensynę [Szwajkowska i in. 2011, Marcone i in. 2017, Guha i in. 2021]. Należy podkreślić, iż bogatym źródłem peptydów są produkty mleczne, głównie sery i napoje fermentowane (tab. 8). W procesie dojrzewania sera powstaje wiele peptydów, w tym kazomorfina – opioid należący do tej samej rodziny co morfina. Kazomorfiny mogą pokonywać barierę jelitową i wpływać na układ nerwowy, pokarmowy oraz immunologiczny. Przypisuje się im także wpływ na układ naczyniowo-sercowy oraz oddechowy [Park i Nam 2015]. Z kolei podczas produkcji jogurtów powstają kazoplateliny, peptydy przeciwzakrzepowe, które uniemożliwiają powstanie z fibrynogenu nierozpuszczalnego skrzepu fibryny. Peptydy o działaniu zbliżonym do morfiny powstają również z białek serwatkowych i są to laktorfiny. Jednocześnie pełnią funkcję ACE-inhibitora (ang. angiotensin converting enzyme), czyli inhibitora enzymu katalizującego powstawanie angiotensyny II – hormonu podnoszącego ciśnienie krwi. Peptyd ten oddziałuje także na mięśnie gładkie, usprawniając przepływ krwi. Zastosowane w farmakologii laktorfiny mogą przynieść znaczące efekty w leczeniu i zapobieganiu chorobie wieńcowej serca. W sekwencjach  $\beta$ -laktoglobuliny wyizolowano ponadto  $\beta$ -laktotensynę, laktokininę i  $\beta$ -laktozynę. Peptydy te są również inhibitorami ACE.  $\beta$ -laktotensyna wykazuje także aktywność hipocholesterolemiczną i antystresową. Z cząsteczki  $\beta$ -laktoglobuliny, po częściowym nadtrawieniu proteolitycznym, wyizolowano również peptydy o właściwościach antibakteryjnych. Działają one zarówno na bakterie Gram-dodatnie (*Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*), jak i Gram-ujemne (*Escherichia coli*, *Bordetella bronchisepti-*



ca). Należy podkreślić, iż peptydy przeciwdrobnoustrojowe są uznawane za ważny składnik wrodzonej odporności, szczególnie na powierzchniach błon śluzowych, takich jak płuca i jelito cienkie, które są stale narażone na szereg potencjalnych patogenów [El-Sayed i Awad 2019b]. W medycynie jako ochrona przed bakteriami patologicznymi, grzybami, pierwotniakami i wirusami wykorzystuje się peptydy pochodzące z laktoferyny – laktoferampinę i laktoferynę. Wykazują one aktywność w stosunku do *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, *Bacillus subtilis* i *Pseudomonas aureginosa* oraz *Candida albicans* [Król i Brodziak 2015].

Mleko i produkty mleczarskie są również podstawowym źródłem peptydów o właściwościach antyoksydacyjnych [Darewicz i in. 2015]. Peptydy te wykazują zdolność do hamowania szkodliwych zmian spowodowanych utlenianiem lipidów, posiadają właściwości zmiatania wolnych rodników. Składają się najczęściej z reszt 5–11 aminokwasów, w tym hydrofobowych (prolina, histydyna, tyrozyna, tryptofan lub cysteina), które w postaci wolnej także wykazują aktywność przeciwutleniającą [El-Sayed i Awad 2019b]. Aktywność taką wykazuje  $\beta$ -kazeina i uwalniane z niej peptydy, np. o sekwencjach: VKEAMAPK, AVPYYPQR, KVLVPEK, VLPVPEK, oraz  $\alpha$ s1-kazeina, np. o sekwencji YFYPEL [Darewicz i in. 2015]. Timón i in. [2014] zidentyfikowali 3 peptydy o działaniu zmiatającym rodniki z sera typu burgos, tj. pochodzące z  $\alpha$ s1-kazeiny (SDIPNPIGSENSEKTTMPLW) i  $\beta$ -kazeiny (YQQPVLGPVRGPFPIIV; LLYQQPVLGPVRGPFPIIV). Również z  $\beta$ -laktoglobuliny, poddanej hydrolizie z udziałem preparatu Corolase PP, wyizolowano i zidentyfikowano szereg biopeptydów przeciwutleniających [Hernández-Ledesma i in. 2005]. Wykazano, iż bioaktywne peptydy serwatki, w tym tripeptyd Ile-Pro-Ala uwalniany z  $\beta$ -laktoglobuliny, mogą być wykorzystywane w redukcji cukrzycy typu 2 i otyłości [Vargas-Bello-Pérez i in. 2019]. Bioaktywne peptydy z mleka (VAGTWY) i sera typu gouda (LPQNIPP) mogą również obniżać stężenie glukozy w osoczu.

Z uwagi na rosnące zainteresowanie konsumentów produktami wspomagającymi utrzymanie dobrego stanu zdrowia czy spowalnianie procesu starzenia coraz częściej białka mleka oraz peptydy wykorzystywane są do wzbogacania żywności, odżywek czy też wysokobiałkowych preparatów dla osób starszych i rekonwalescentów [Król i in. 2011b]. Coraz większe znaczenie odgrywają preparaty na bazie poszczególnych białek serwatkowych lub peptydów (np. Immunocal, Lactoferrin). Ich stosowanie wpływa korzystnie na odporność organizmu oraz zapobiega chorobom układu pokarmowego. U niemowląt i dzieci do lat 4 stwierdzono redukcję przypadków występowania biegunek wywoływanych przez rotawirusy [Gapper i in. 2007]. Badania kliniczne potwierdziły skuteczność tych preparatów również w terapii przeciwbólowej u pacjentów z zespołem fibromialgii [Goebel i in. 2008]. Z kolei preparaty z siary zawierające polipeptydy bogate w prolinę (ang. proline rich polypeptides, PRP), np. Colostrinin, Colostrinina, Cognase, okazały się skuteczne w chorobie Alzheimera, u pacjentów dochodziło do poprawy funkcji poznawczych i sprawności umysłu oraz hamowania odkładania się złogów amyloidowych [Park i Haenlein 2006].

Należy podkreślić, że zwłaszcza w Japonii i USA dostępne są na szeroką skalę mleczne produkty funkcjonalne zawierające bioaktywne peptydy pochodzące z białek mleka. Calpis AMEEL S (Japonia) lub Calpico (Europa) to handlowe nazwy mleka kwaśnego. Natomiast w Finlandii produkowane jest mleko fermentowane – Evolus. Wszystkie te produkty zawierają bioaktywne tripeptydy pochodzące z  $\beta$ - i  $\kappa$ -kazeiny o właściwościach przeciwnadciśnieniowych. Na rynku dostępny jest także produkt o nazwie BioPURE-GMP (USA). Jest to hydrolizat białek serwatkowych zawierający glikomakropeptyd (pochodzący z  $\kappa$ -kazeiny). Wykazuje on właściwości przeciwnowotworowe, przeciwbakteryjne i przeciwkrzepliwe. Następnym produktem jest ProDiet F200 (Francja), który zawiera bioaktywny fragment  $\alpha$ s1-kazeiny (YLGYLEQLLR) redukujący stres. W Japonii dostępne są także napoje bezalkoholowe (Tekkotsu Inryou i Kotsu Kotsu Calcium) zawierające kazeinofosfopeptydy, które umożliwiają lepsze wchłanianie składników mineralnych [Szersznowicz 2014, Brodziak i in. 2017].

Tabela 8. Bioaktywne peptydy pochodzące z mleka oraz ich działanie [Park i Haenlein 2006, Caroli i in. 2009, Phelan i in. 2009, Vargas-Bello-Pérez i in. 2019, FitzGerald i in. 2020]

Bioaktywne peptydy	Prekursor	Bioaktywność
Kazeina		
Kazomorfiny	$\alpha$ - oraz $\beta$ - kazeina	agonista opioidów
Egzorfina	$\alpha$ -kazeina	agonista opioidów
Kazoksyny	$\kappa$ -kazeina	antagonista opioidów
Kazokininy	$\alpha$ - oraz $\beta$ -kazeina	działanie hipotensyjne
Kazoplateliny	$\alpha$ -kazeina, transferryny	działanie przeciwzakrzepowe
Kazopiastryny	$\kappa$ -kazeina	działanie przeciwzakrzepowe
Kazocydyna	$\alpha$ - oraz $\beta$ -kazeina	działanie antybakteryjne
Isracydyna	$\alpha$ -kazeina	działanie antybakteryjne
Immunopeptydy	$\alpha$ - oraz $\beta$ -kazeina	działanie immunostymulujące
Fosfopeptydy	$\alpha$ - oraz $\beta$ -kazeina	nośniki związków mineralnych
Kazeinomakropeptyd	$\kappa$ -kazeina	działanie antybakteryjne, przeciwzakrzepowe i immunostymulujące
Białka serwatkowe		
$\alpha$ -laktorfina	$\alpha$ -laktoalbumina	agonista opioidów, działanie hipotensyjne
$\beta$ -laktorfina	$\beta$ -laktoglobulina	agonista opioidów, działanie hipotensyjne
$\beta$ -laktotensyna	$\beta$ -laktoglobulina	działanie hipocholesterolemiczne i hipotensyjne
Laktokininy	$\beta$ -laktoglobulina $\alpha$ -laktoalbumina	działanie hipotensyjne, inhibitor ACE
Laktoferoksyny	laktoferyna	antagonista opioidów
Laktoferycyna	laktoferyna	działanie antybakteryjne, przeciwwirusowe i przeciwgrzybiczne
Albutensyna A	albumina serum (BSA)	inhibitor ACE
Serorfina	albumina serum (BSA)	antagonista opioidowy

## Tłuszcz

Mleko charakteryzuje się wysoką zawartością nasyconych kwasów tłuszczowych kojarzonych najczęściej z zagrożeniem otyłością, hipercholesterolemią i miażdżycą. Rzeczywiście, tłuszcz mleka krowiego zawiera średnio ok. 70% kwasów nasyconych (SFA), 25% jednonienasyconych (MUFA) i 5% wielonienasyconych (PUFA), podczas gdy idealny profil kwasów tłuszczowych z punktu widzenia zdrowia człowieka powinien wynosić 8% SFA, 82% MUFA i 10% PUFA (tab. 9) [Jenkins i McGuire 2006, Hanuš i in. 2018]. Unikatową cechą tłuszczu mlecznego jest występowanie kwasów nasyconych krótkołańcuchowych. Wykorzystywane są w całości jako źródło energii niezbędnej do funkcjonowania narządów, a tym samym nie stanowią ryzyka otyłości. Kwasy te poprawiają również profil lipidowy krwi, ograniczając syntezę cholesterolu wątrobowego i trójglicerydów. Kwasy laurynowy (C12:0) oraz kaprynowy (C10:0) charakteryzują się działaniem bakteriobójczym w stosunku do takich patogenów, jak *Listeria monocytogenes*, *Clostridium perfringens*, *Escherichia coli*, *Salmonella enteritidis* czy *Campylobacter jejuni* [Mills i in. 2011]. Jedynie nasycone kwasy długołańcuchowe odpowiedzialne są za negatywne konsekwencje zdrowotne dla organizmu człowieka, głównie zwiększają ryzyko chorób sercowo-naczyniowych [Haug i in. 2007, Hunter i in. 2010, Cichosz i Czeczot 2012, Hanuš i in. 2018]. Ważną grupą kwasów tłuszczowych są kwasy nienasycone, które stanowią największą grupę bioaktywnych składników w obrębie frakcji tłuszczowej mleka [Haug i in. 2007, Barłowska i Litwińczuk 2009, Król i Brodziak 2012, Hanuš i in. 2018]. Około 35% wszystkich kwasów tłuszczowych w tłuszczu mlekowym stanowią kwasy MUFA, wśród których dominuje kwas oleinowy (C18:1). Jego działanie na organizm ludzki jest niezwykle ważne, gdyż zmniejsza zawartość zarówno cholesterolu ogólnego, jak i frakcji LDL oraz trójglicerydów, redukując ryzyko występowania chorób układu krążenia [Król i Brodziak 2012]. Wśród kwasów nienasyconych najcenniejsze, z punktu widzenia fizjologii człowieka, są kwasy PUFA, które nazywane są niezbędnymi nienasyconymi kwasami tłuszczowymi (NNKT). Muszą być one dostarczone do organizmu wraz z pożywieniem, ponieważ nie są syntetyzowane w organizmie człowieka, a ich deficyt prowadzi do zjawisk patologicznych ujawniających się klinicznie. Do grupy tej zaliczamy kwas linolowy (C18:2 LA n-6) i kwas  $\alpha$ -linolenowy (C18:3 n-3) oraz metabolity tych kwasów syntetyzowane w organizmie człowieka lub dostarczane z dietą, tj. kwas arachidonowy (C20:4 AA n-6), kwas eikozapentaenowy (C20:5 EPA n-3) oraz kwas dokozaheksaenowy (C22:6 DHA n-3) [Haug i in. 2007]. Pełnią one w organizmie człowieka szereg funkcji biologicznych. Wchodzą w skład fosfolipidów błon komórkowych i organelli wewnątrzkomórkowych. Wykazują działanie antynowotworowe, przeciwmiażdżycowe, obniżające ciśnienie krwi, przeciwzapalne i zwiększające odporność [Rutkowska i in. 2012, Rutkowska i in. 2015, Hanuš i in. 2018, Santin i in. 2019]. Należy podkreślić, iż w przypadku żywności zawierającej kwasy EPA i DHA zostały dopuszczone do stosowania oświadczenia zdrowotne podające, że

Tabela 9. Wpływ wybranych kwasów tłuszczowych na zdrowie człowieka [Hanuš i in. 2018]

Kwasy tłuszczowe	Funkcje
C4:0	<ul style="list-style-type: none"> <li>– korzystny wpływ na florę jelitową i ścianę przewodu pokarmowego człowieka przede wszystkim poprzez działanie jako bezpośrednie źródło energii dla kolonocytów</li> <li>– jeden z czynników zapobiegających progresji raka jelita grubego i raka sutka</li> <li>– hamowanie wzrostu komórek, promowanie różnicowania i indukcja apoptozy w różnych ludzkich liniach komórkowych raka</li> <li>– może zapobiegać inwazji guzów poprzez działanie hamujące na urokinazę</li> <li>– wydaje się wywierać szerokie działanie przeciwzapalne, wpływając na migrację komórek odpornościowych, adhezję i ekspresję cytokin, a także na procesy komórkowe, takie jak proliferacja, aktywacja i apoptoza</li> </ul>
C12:0 C14:0 C16:0 C18:0	<ul style="list-style-type: none"> <li>– C12:0, C14:0 i C16:0 są związane ze zwiększonym ryzykiem miażdżycy, hiperlipidemii i cholesterolu lipoprotein o niskiej gęstości, otyłości i choroby niedokrwiennej serca</li> <li>– C14:0 i C16:0 – zwiększają poziom cholesterolu całkowitego we krwi i zwiększają ryzyko chorób sercowo-naczyniowych</li> <li>– C18:0 i C14:0 – zwiększają trombogenność i poziom cholesterolu</li> </ul>
C16:1	<ul style="list-style-type: none"> <li>– uważany za lipokinę uwalnianą z tkanki tłuszczowej, działającą na odległe narządy</li> <li>– mieszane skutki sercowo-naczyniowe, bezpośrednie lub odwrotne korelacje z otyłością, hepatostezą i znacznym złagodzeniem lub zapobieganiem insulinooporności i cukrzycy</li> </ul>
C18:1 c9 C18:3 n-3	<ul style="list-style-type: none"> <li>– właściwości przeciwnowotworowe i przeciwmiażdżycowe</li> <li>– pozytywny wpływ na poziom cholesterolu</li> <li>– poprawa odpowiedzi immunologicznej (działanie przeciwzapalne)</li> </ul>
C18:2 n-6	<ul style="list-style-type: none"> <li>– poprawia wrażliwość na insulinę, a tym samym zmniejsza częstość występowania cukrzycy typu 2</li> </ul>
CLA cis-9, trans-11 CLA trans-10, cis-12	<ul style="list-style-type: none"> <li>– zmniejszony wzrost guza</li> <li>– zmniejszone ryzyko choroby niedokrwiennej serca</li> <li>– hamujący wpływ na proliferację komórek nowotworowych i wzrost ludzkich komórek nowotworowych</li> <li>– modyfikacja metabolizmu lipidów (ze spadkiem masy tkanki tłuszczowej)</li> </ul>
AA EPA	<ul style="list-style-type: none"> <li>– neutralizacja C12:0, C14:0 i C16:0 poprzez podwyższenie poziomu cholesterolu w lipoproteinach o dużej gęstości</li> <li>– właściwości przeciwnowotworowe, przeciwnadciśnieniowe i przeciwzapalne</li> </ul>
DHA	<ul style="list-style-type: none"> <li>– pozytywny wpływ na komórki mózgowe, co jest ważne podczas remisji choroby Alzheimera</li> <li>– właściwości przeciwnowotworowe, przeciwnadciśnieniowe i przeciwzapalne</li> </ul>
BCFA kwasy tłuszczowe o rozgałęzionych łańcuchach	<ul style="list-style-type: none"> <li>– aktywność przeciwnowotworowa</li> <li>– zmniejszone ryzyko martwiczego zapalenia jelit u noworodków</li> <li>– poprawa funkcji komórek <math>\beta</math></li> </ul>

kwasy te „przyczyniają się do prawidłowego funkcjonowania serca”, „kwas dokozaheksaenowy (DHA) przyczynia się do utrzymania prawidłowego widzenia” i „prawidłowego funkcjonowania mózgu”. Jednakże oświadczenie to musi pojawiać się wraz ze wskazaniem, że korzystne działanie występuje przy spożywaniu co najmniej 250 mg DHA/EPA dziennie [Rozporządzenie Komisji nr

432/2012]. Coraz większym zainteresowaniem, ze względu na potencjalne właściwości przeciwniażdżycowe i antynowotworowe, cieszy się skoniugowany kwas linolowy (CLA). Jest on mieszaniną pozycyjnych i geometrycznych izomerów kwasu linolowego. Izomery te mogą mieć konfigurację przestrzenną cis i trans. Istnieje potencjalnie 28 różnych izomerów CLA, jednak aktywność biologiczną wykazują jedynie 2 z nich, a mianowicie cis-9, trans-11 i trans-10, cis-12 [Wang i Lee 2015]. Badania na zwierzętach modelowych wykazały, że cis-9, trans-11 CLA wykazuje właściwości przeciwnowotworowe w stosunku do nowotworów skóry, sutka, jelita grubego, żołądka i prostaty [Rutkowska i in. 2015]. Ogranicza, a nawet całkowicie wstrzymuje tworzenie się przerzutów. Aro i in. [2000] stwierdzili ponad 60% redukcję ryzyka występowania raka piersi u kobiet po menopauzie spożywających sery bogate w CLA.

Na rynku dostępne są obecnie różnego rodzaju preparaty prozdrowotne zawierające izomery CLA otrzymywane syntetycznie w procesach chemicznych [Mills i in. 2011]. Należy podkreślić, iż preparat z siary owczej zawierający 11,3% naturalnego CLA jest bardziej skuteczny w hamowaniu rozwoju komórek nowotworowych niż komercyjne 80% Bio-CLA [Kuczyńska i in. 2013]. Zdolność do wywoływania apoptozy w stosunku do różnych komórek nowotworowych wykazuje również kompleks białkowo-lipidowy, który tworzy  $\alpha$ -laktoalbumina, wchodząc w interakcję z kwasem oleinowym. Kompleks ten został nazwany HAMLET/BAMLET (odpowiednio dla ludzkiej/krowiej  $\alpha$ -LA). Preparaty na bazie wymienionego kompleksu znajdują zastosowanie jako naturalne środki w terapii oraz profilaktyce nowotworów [Fang i in. 2017].

Należy podkreślić, że w ciągu ostatnich kilku lat wskazano, że forma trans kwasów tłuszczowych oraz inne kwasy tłuszczowe mleka cieszące się do tej pory złą sławą zapobiegają rozwojowi chorób cywilizacyjnych, takich jak cukrzyca, otyłość czy nadciśnienie tętnicze [Allothman i in. 2019, O'Callaghan 2019, Taormina i in. 2020].

## Witaminy

Mleko jest cennym źródłem witamin zarówno rozpuszczalnych w wodzie, jak i w tłuszczach. Jeden litr mleka pełnotłustego pokrywa zapotrzebowanie dzienne osoby dorosłej na witaminy średnio na poziomie od 6,5% (w przypadku B<sub>3</sub> – niacyny) do 85% (dla B<sub>2</sub> – ryboflawiny) [Brodziak i in. 2017]. Należy pamiętać, że witaminy są nieodzowne dla prawidłowego funkcjonowania organizmu człowieka (tab. 10). Witamina D reguluje gospodarkę wapniowo-fosforanową w organizmie, co jest bezpośrednio związane z mineralizacją kości [Zaborska i in. 2014]. Niedobór tej witaminy objawia się zaburzeniami wzrostu, deformacją szkieletu, krzywicą oraz zwiększonym ryzykiem złamań kości w wieku późniejszym. Zapobiega również nadmiernemu wydalaniu wapnia i fosforu z moczem. Witamina E, a w szczególności jej aktywna forma  $\alpha$ - tokoferol, jest głównym przeciwutleniaczem mleka. Jej działanie polega na

zmiataniu wolnych rodników organicznych, a także hamowaniu peroksydacji lipidów i wygaszaniu tlenu singletowego. Podobne działanie wykazuje również  $\beta$ -karoten (prowitamina A) [Weber i Grune 2012]. Właściwości antyoksydacyjne wykazuje również witamina C, która jest silnym inhibitorem peroksydacji lipidów, a ponadto wpływa na regenerację witaminy E [Vanitcharoen i in. 2018]. Ważną rolę w przebiegu wielu procesów fizjologicznych w organizmie człowieka odgrywa witamina A. Uczestniczy przede wszystkim w procesie prawidłowego widzenia. Wchodzi w skład światłoczułego barwnika siatkówki oka (rodopsyny) odpowiedzialnego za odbieranie bodźców wzrokowych [Zaborska i in. 2015a].

Tabela 10. Wybrane funkcje głównych witamin występujących w mleku i produktach mlecznych [Zaborska i in. 2014, 2015a, 2015b, Brodziak i in. 2017, Vanitcharoen i in. 2018]

Witamina	Oddziaływanie na organizm
A	<ul style="list-style-type: none"> <li>– prekursor retinolu, istotna rola w procesie widzenia i rozwoju płodu</li> <li>– udział w procesach wzrostu i różnicowania komórek układu nerwowego i kośćca</li> <li>– działanie przeciwutleniające, udział w ochronie organizmu przed bakteriami i zanieczyszczeniami</li> <li>– utrzymuje w dobrej kondycji skórę, włosy i paznokcie</li> <li>– niweluje przebarwienia wywołane promieniami słonecznymi</li> <li>– stymuluje wytwarzanie kolagenu i elastyny w warstwie właściwej skóry</li> <li>– reguluje pracę gruczołów łojowych</li> <li>– przyspiesza proces gojenia naskórka</li> </ul>
D	<ul style="list-style-type: none"> <li>– odgrywa kluczową rolę w metabolizmie wapnia i fosforu, nieodzowna w prawidłowym rozwoju układu kostnego i zębów dzieci</li> <li>– reguluje wydzielanie parathormonu</li> <li>– łagodzi nasilenia atopowego zapalenia skóry</li> </ul>
E	<ul style="list-style-type: none"> <li>– działanie przeciwutleniające (wyłapuje wolne rodniki, powstrzymuje reakcje peroksydacji lipidów)</li> <li>– uczestniczy w ważnych funkcjach organizmu, tj. procesie krzepnięcia krwi, odporności, rozrodcie</li> <li>– określana mianem „witaminy młodości”</li> <li>– hamuje proces starzenia się komórek</li> <li>– działanie antykancerogenne</li> <li>– działanie przeciwniażdżycowe</li> <li>– działanie przeciwnadciśnieniowe</li> <li>– działanie przeciwzapalne</li> </ul>
K	<ul style="list-style-type: none"> <li>– udział w procesie krzepnięcia krwi i formowaniu tkanki kostnej</li> </ul>
Witaminy z grupy B	<ul style="list-style-type: none"> <li>– odpowiadają za prawidłową pracę układu krążenia oraz układu nerwowego</li> <li>– uczestniczą w procesie tworzenia erytrocytów</li> <li>– metabolizują aminokwasy, tłuszcze oraz węglowodany</li> <li>– wspomagają procesy gojenia się skóry, działanie przeciwutleniające</li> <li>– wspiera układ immunologiczny poprzez kierowanie specjalizacją i podziałem komórek</li> <li>– czynnik niezbędny w procesie powstawania elementów morfotycznych krwi oraz w podziale komórkowym (jako koenzym) – określana jako czynnik wzrostu</li> </ul>
C	<ul style="list-style-type: none"> <li>– działanie przeciwutleniające, czynnik niezbędny w licznych procesach metabolicznych przebiegających w organizmie</li> </ul>

## Składniki mineralne

Mleko jest również ważnym źródłem składników mineralnych (wapń, fosfor, sód, potas, jod, magnez i niewielkie ilości żelaza), które charakteryzują się bardzo wysoką biodostępnością i optymalnymi proporcjami [Zaręba i in. 2012]. Pełnią one w organizmie człowieka liczne funkcje (tab. 11). Szczególne znaczenie w żywieniu, zwłaszcza dzieci i młodzieży, ma wapń ze względu na właściwości budulcowe w czasie rozwoju oraz wzrostu organizmu. Jest niezbędny do wzrostu i rozwoju kości i zębów [Barłowska i in. 2011, Gijsbers i in. 2016]. Pełni w organizmie również wiele innych funkcji, m.in. uczestniczy w przewodnictwie bodźców nerwowych i regulacji pobudliwości nerwów, kurczliwości mięśni, aktywacji enzymów, krzepnięciu krwi [Górska-Warsewicz i in. 2019]. Przyczynia się również do zmniejszenia ryzyka zachorowania na nowotwory (jelita grubego, prostaty, sutka) [Zalega i Szostak-Węgorek 2013, Bilandzić i in. 2015]. Należy podkreślić, iż głównymi źródłami wapnia są mleko i produkty mleczne, szczególnie sery podpuszczkowe. Co istotne, przyswajalność wapnia z produktów mlecznych sięga 30–40%, podczas gdy z licznych produktów pochodzenia roślinnego zwykle nie przekracza 10%. Wynika to z obecności w produktach mlecznych substancji zwiększających biodostępność wapnia, tj. witaminy D, fosfopeptydów powstających w wyniku hydrolizy kazeiny, laktozy czy aminokwasów zasadowych [Mills i in. 2011, Brodziak i in. 2017].

Tabela 11. Wybrane funkcje składników mineralnych występujących w mleku i produktach mlecznych [Gijsbers i in. 2016, Górska-Warsewicz i in. 2019]

Składnik	Oddziaływanie na organizm
Wapń	<ul style="list-style-type: none"> <li>– uczestniczy w budowie kości i zębów</li> <li>– wpływa na pracę mięśni</li> <li>– reguluje procesy krzepliwości krwi</li> <li>– reguluje pracę przytarczyc</li> </ul>
Magnez	<ul style="list-style-type: none"> <li>– uczestniczy w regulacji cyklu komórkowego</li> <li>– uczestniczy w procesach naprawczych DNA</li> <li>– wpływa na syntezę ATP i ADP</li> <li>– przeciwdziała niedotlenieniu mięśnia sercowego oraz reguluje ciśnienie krwi</li> </ul>
Fosfor	<ul style="list-style-type: none"> <li>– odpowiada za syntezę witaminy C</li> <li>– pozwala utrzymać odpowiednią masę kostną</li> <li>– wpływa na gospodarkę hormonalną</li> <li>– odpowiada na gospodarkę wapniową oraz wchłanianie cynku, magnezu i miedzi</li> </ul>
Potas	<ul style="list-style-type: none"> <li>– odpowiada za utrzymanie równowagi wodnej oraz kwasowo-zasadowej</li> <li>– uczestniczy w procesie tworzenia potencjału spoczynkowego i czynnościowego komórek nerwowych</li> <li>– wspomaga pracę układu krążenia</li> </ul>
Cynk	<ul style="list-style-type: none"> <li>– odpowiada za prawidłowe funkcjonowanie układu immunologicznego</li> <li>– chroni komórki przed utlenianiem</li> <li>– wpływa na prawidłową pracę układu rozrodczego</li> <li>– hamuje proces zaniku grasicy</li> <li>– moduluje układ odpornościowy</li> <li>– utrzymuje kondycję skóry</li> </ul>



## **Technologie produkcji i przetwarzania mleka ukierunkowane na podniesienie wartości prozdrowotnej**

Mleko i produkty mleczne są cennym składnikiem codziennej diety. Dostarczają one niezbędnych składników pokarmowych w formie łatwo dostępnej biologicznie. Wysoka wartość biologiczna składników mleka wiąże się z ich dużą różnorodnością, strawnością i przyswajalnością, co odgrywa podstawową rolę w żywieniu człowieka. Mleko dostarcza nie tylko pełnowartościowego białka i łatwostrawnego tłuszczu, ale również wielu bioaktywnych składników pochodzących m.in. z frakcji białkowej i tłuszczowej. Poszczególne składniki mleka wykazują szereg właściwości prozdrowotnych i odgrywają istotną rolę w prawidłowym funkcjonowaniu organizmu [Górska-Warsewicz i in. 2019].

Skład chemiczny i jakość mleka są warunkowane szeregiem czynników, m.in. rasą zwierząt, jak też technologią produkcji. Zdecydowana większość mleka produkowanego w Polsce pochodzi z gospodarstw wielkotowarowych, utrzymujących wysoko produkcyjne krowy rasy holsztyńsko-fryzyjskiej. Obok ras wysoko produkcyjnych użytkowane są również rodzime rasy bydła, tj. polska czerwona, białogrzbieta, polska czarno-biała i polska czerwono-biała. Krowy tych ras cechują się niższą produktywnością, ale są doskonale przystosowane do lokalnych warunków glebowo-żywniowych, wykazując przy tym wiele zalet, m.in. odporność na choroby i długowieczność [Litwińczuk i in. 2012]. Są one utrzymywane w tradycyjnych systemach chowu, gdzie w okresie letnim podstawą żywienia jest zielonka pastwiskowa, a w zimowym – siano i kiszonki z runi łąkowej. Liczne wyniki badań wskazują, że mleko krów wypasanych na pastwiskach cechuje się wyższą wartością odżywczą, zawartością składników pozytywnie wpływających na zdrowie człowieka oraz przydatnością do przetwórstwa w porównaniu z mlekiem pozyskiwanym z gospodarstw nastawionych na produkcję intensywną [Toledo i in. 2002, Gabryszuk i in. 2008, Król i in. 2010b, Brodziak i in. 2018a, Teter i in. 2019].

Białko jest głównym składnikiem mleka decydującym o jego przydatności do przerobu, a jednocześnie bogatym źródłem składników funkcjonalnych [Guiloteau i in. 2010, Szwajkowska i in. 2011]. Brodziak i in. [2018a], analizując wpływ systemu utrzymania krów na profil białek serwatkowych mleka, wykazali, że mleko pochodzące z gospodarstw niskonakładowych (tradycyjnych i ekologicznych) zawierało więcej białek serwatkowych niż to z gospodarstw intensywnych. Zawartość  $\beta$ -laktoglobuliny, głównej albuminy mleka, wynosiła odpowiednio 3,26 i 3,32 g/l, podczas gdy w mleku produkowanym w systemie intensywnym zawartość tej frakcji białka była niższa o 0,10 g/l. Również Kuczyńska i in. [2012] wskazują na istotnie wyższy ( $P < 0,01$ ) poziom  $\beta$ -laktoglobuliny w mleku z gospodarstw ekologicznych niż z konwencjonalnych (4,12 vs. 2,68 g/l).

System produkcji mleka warunkuje również poziom białek serwatkowych o właściwościach antybakteryjnych, tj. laktoferyny i lizozymu. Brodziak i in. [2018a] wykazali, że mleko krów korzystających z pastwisk zawierało więcej

(o ok. 10%) laktoferyny i lizozymu niż mleko z intensywnych systemów produkcji. Najwyższe stężenia tych białek stwierdzono w mleku ekologicznym (laktoferyna – 123,8 mg/l; lizozym – 11,14 µg/l). Kuczyńska i in. [2012] wykazali blisko 2-krotnie więcej laktoferyny w mleku ekologicznym niż w konwencjonalnym, poziom lizozymu był natomiast zbliżony.

Głównym składnikiem energetycznym mleka jest tłuszcz. Żywnienie zwierząt jest głównym czynnikiem modyfikującym zawartość tłuszczu i profil kwasów tłuszczowych mleka. Wyniki licznych badań wskazują, że mleko krów żywionych zielonkami w porównaniu z mlekiem krów żywionych paszami konserwowanymi ma znacznie korzystniejszy profil kwasów tłuszczowych [Kuczyńska 2011, Kirchnerová i in. 2013, Ruiz i in. 2016]. Kuczyńska [2011] wykazała istotny wzrost zawartości kwasów C18:1 trans-11 (główny prekursor kwasu CLA), sprzężonego kwasu linolowego (CLA) i  $\alpha$ -linolenowego (LNA) w mleku krów korzystających z pastwisk w porównaniu z mlekiem krów żywionych w systemie TMR. Zawartość tych kwasów w mleku krów przebywających na pastwisku wynosiła odpowiednio 4,46, 1,36 i 0,86 g/100 g tłuszczu, a w mleku krów żywionych w systemie TMR – 1,34, 0,49 i 0,39 g/100 g tłuszczu. Lock i Garnsworthy [2003] wykazali w mleku krów wypasanych wzrost zawartości kwasu  $\alpha$ -linolenowego, co przekładało się na korzystniejszą proporcję tego kwasu w stosunku do linolowego, jak również korzystniejszą proporcję kwasów n-6 do n-3 (zmiana z 4 : 1 do 2 : 1). Również wyniki badań Barłowskiej i in. [2012a] wskazują, że system produkcji mleka istotnie wpływa na profil kwasów tłuszczowych. Autorzy wykazali, że krowy utrzymywane na pastwiskach w gospodarstwach tradycyjnych produkowały mleko o istotnie ( $P \leq 0,01$ ) wyższym udziale kwasów nienasyconych (UFA), w tym jedno- (MUFA) i wielonienasyconych (PUFA), m.in. CLA, w porównaniu ze zwierzętami utrzymywanymi w systemie intensywnym.

Wyniki badań jednoznacznie wskazują, że wypas krów na pastwiskach korzystnie wpływa zarówno na frakcję białkową, jak i tłuszczową mleka, podnosząc jego wartość prozdrowotną. Mleko krów korzystających z pastwisk jest cennym źródłem składników biologicznie czynnych pozytywnie wpływających na zdrowie konsumenta. Jednak w gospodarstwach o dużej skali produkcji, utrzymujących krowy o wysokim potencjale produkcyjnym w oborach wolnostanowiskowych, żywienie krów zazwyczaj całorocznie opiera się głównie o sianokiszonki i kiszonkę z kukurydzy. Taki system żywienia pozwala zbilansować prawidłowo dawkę pokarmową, unikać ewentualnych problemów żywieniowych i organizacyjnych oraz wykorzystać potencjał produkcyjny zwierząt. Obok wypasu pastwiskowego istotnym sposobem modyfikacji wartości prozdrowotnej produkowanego mleka jest suplementacja diety krów.

W celu modyfikacji profilu kwasów tłuszczowych mleka testowano szereg komponentów paszowych, m.in. dodatki będące źródłem tłuszczu roślinnego – oleje roślinne, nasiona roślin oleistych, lub zwierzęcego – olej rybi, preparaty zawierające tłuszcz chroniony [Chilliard i Ferlay 2004, Kupczyński 2012, Bryszak i in. 2019]. Efekty suplementacji diety krów nasionami i olejami roślinnymi przedstawiono w tabeli 12. Reklewska i in. [2002], stosując w dawce pokarmo-

wej nasiona lnu oleistego z mieszanką mineralną, wykazali korzystne zmiany w profilu kwasów tłuszczowych mleka. Zaobserwowano wzrost poziomu nienasyconych kwasów tłuszczowych (o 15%) i spadek poziomu kwasów nasyconych (o 8%) w porównaniu z grupą kontrolną. Istotne zmiany nastąpiły w zawartości kwasów CLA i linolenowego w tłuszczu mlecznym. Dodatek nasion lnu w diecie krów nie wpłynął na ilość produkowanego mleka oraz zawartość makroskładników. Również Collomb i in. [2004], wykorzystując w żywieniu krów nasiona roślin oleistych, takich jak len, rzepak i słonecznik, zaobserwowali korzystne zmiany w profilu kwasów tłuszczowych mleka (obniżenie stężenia kwasów nasyconych na korzyść kwasów nienasyconych). Najwyższe stężenie nienasyconych kwasów tłuszczowych, w tym CLA, stwierdzono w mleku krów otrzymujących dodatek nasion słonecznika. Z kolei zastosowanie nasion lnu zwiększyło zawartość kwasu alfa-linolenowego (ALA) w mleku.

Tabela 12. Wpływ suplementacji diety krów roślinami oleistymi na profil kwasów tłuszczowych mleka – różnice między grupą suplementowaną i kontrolną [Chiliard i Ferlay 2004]

Kwasy tłuszczowe (%)	Len		Słonecznik		Soja			Rzepak	
	olej	nasiona	olej	nasiona	olej	surowa	ekstrudowana	olej	nasiona
C4:0	-0,1	nd.	-0,2	-1,2	+0,5	+0,3	+0,1	+0,4	nd.
C6:0–C8:0	-0,8	-0,6	-0,9	-2,1	-0,4	-0,2	-0,4	-1,1	-0,9
C10:0–C14:0	-4,6	-3,2	-5,3	-8,6	-5,2	-3,7	-3,6	-2,7	-3,9
C16:0	-9,6	-3,2	-9,9	-8,7	-5,1	-7,5	-5,4	-10,7	-4,0
C18:0	+3,0	+3,8	+3,3	+4,1	+3,4	+0,8	+1,7	+4,0	+3,3
C18:1	+7,1	+4,0	+9,2	+15,8	+6,3	+7,9	+4,6	+13,6	+5,7
C18:1 c9	+4,0	nd.	+5,2	+9,7	nd.	nd.	+2,7	+10,6	nd.
C18:1 t11	+3,1	-0,4	+4,0	+7,4	nd.	nd.	+1,4	+3,0	+0,02
C18:2 c9c12	-0,1	-0,7	+0,4	+1,3	-1,0	+0,9	+1,9	-0,1	-0,8
C18:3	+0,2	+0,8	-0,1	+0,3	-0,04	-0,1	+0,3	+0,3	+0,02
c9c12c15									
C18:2c9t11	+1,2	-0,2	+1,6	nd	+1,7	-0,02	+0,5	+0,6	+0,01

nd. – nie stwierdzono

Efektywną metodą modyfikacji składu frakcji tłuszczowej mleka jest również stosowanie olejów rybnych. Kupczyński [2012] wykazał, że zastosowanie oleju śledziowo-szprotowego w dawce pokarmowej krów spowodowało obniżenie zawartości w tłuszczu mleka kwasów nasyconych w porównaniu z ich zawartością w tłuszczu mleka grupy kontrolnej i wynosiło odpowiednio 63,17 i 66,04 g/100 g tłuszczu. Istotnie ( $P \leq 0,01$ ) wzrosła zawartość kwasów nienasyconych (odpowiednio 30,85 i 24,44 g/100 g tłuszczu). W tłuszczu mleka krów doświadczalnych stwierdzono wyraźnie wyższą ( $P \leq 0,01$ ) zawartość kwasów z rodziny n-3 (EPA – 0,42 i DHA – 0,18 g/100 g tłuszczu). W tłuszczu mleka krów z grupy kontrolnej poziom kwasu DHA był poniżej progu wykrywalności.

Również po zastosowaniu chronionego oleju z łososia w mleku krów z grupy doświadczalnej stwierdzono niewielki spadek zawartości kwasów nasyconych, przy wyraźnym wzroście ( $P \leq 0,01$ ) kwasów nienasyconych (z 26 do 30,73 g/100 g tłuszczu). Odnotowano wzrost PUFA, zawartość kwasów EPA i DHA wynosiła odpowiednio 0,23 i 0,22 g/100 g tłuszczu. Moran i in. [2019] wykazali, że suplementacja diety krów glonami morskimi *Aurantiochytrium limacinum* zwiększyła poziom kwasu DHA w produkowanym mleku i zmniejszyła proporcję kwasów n-6 : n-3. Zastosowana suplementacja nie wpłynęła na ilość produkowanego przez krowy mleka oraz zawartość makroskładników w surowcu. Nie wykazano również zmian w przydatności technologicznej mleka. Korzystne zmiany w profilu kwasów tłuszczowych mleka uzyskano po podaniu krowom *Spiruliny platensis*. Suplementacja diety mikroalgami spowodowała istotny wzrost stężenia kwasów rumenowego,  $\alpha$ -linolenowego i dokozaheksaenowego w mleku [Póti i in. 2015].

Tabela 13. Właściwości bioaktywne wybranych ziół i przypraw [El-Sayed i Youssef 2019a]

Ziolo/przyprawa	Właściwości
Pieprz cayenne	kapsaicyna zmniejsza apetyt, wspomaga walkę z rakiem płuc, wątroby i prostaty
Cynamon	silne działanie przeciwutleniające, pomocny w zwalczaniu stanów zapalnych, obniżenie poziomu cholesterolu i trójglicerydów we krwi
Kozieradka	reguluje poziom glukozy we krwi
Czosnek	pomaga w przeziębieniu, obniża poziom cholesterolu we krwi, reguluje ciśnienie krwi
Imbir	łagodzi mdłości, silny środek przeciwzapalny, łagodzi ból
Rozmaryn	zapobiega alergii, silny przeciwutleniacz
Szałwia	poprawia funkcjonowanie mózgu, wspomaga pamięć, hamuje rozpad acetylocholino
Kurkuma	silne działanie przeciwzapalne, wspomaga walkę z chorobą Alzheimera
Wanilia	wykazuje aktywność przeciwutleniającą, przeciwzapalną, potencjał do obniżania poziomu cholesterolu we krwi

Producenci żywności, wychodząc naprzeciw oczekiwaniom konsumentów, coraz częściej sięgają po naturalne dodatki mające na celu podniesienie wartości prozdrowotnej przetwarzanego mleka, a finalnie – oferowanych produktów. Stosowane dodatki mają za zadanie nie tylko nadanie odpowiednich walorów smakowo-zapachowych, ale również są nośnikiem składników wykazujących bioaktywne właściwości. Dodatek składników roślinnych do produktów mlecznych może być źródłem przeciwutleniaczy (np. dodatek owoców jagodowych do jogurtu jako źródła związków fenolowych) lub prebiotyków (ze względu na obecność błonnika) [Jimborean i in. 2015, Granato i in. 2017, Baby i in. 2018]. Brodziak i in. [2021b] zaproponowali mus z rokitnika (*Hippophae rhamnoides* L.) jako nowy składnik jogurtów. Jagody rokitnika mają cytrusowy aromat i są źródłem wielu składników biologicznie czynnych. Charakteryzują się one wyso-

ką zawartością witamin (C, A, B1, B2, K i PP) oraz potencjałem antyoksydacyjnym. W przypadku serów podpuszczkowych zwiększenie potencjału antyoksydacyjnego można uzyskać przez dodatek do mleka przerobowego ekstraktu z omanu łąkowego (*Inula britannica* L.). Aktywność antyoksydacyjna kwiatów tej rośliny wynika z wysokiej zawartości fenoli, głównie luteoliny, chrysoeriolu, kemferolu, kwercetyny, spinacetyny i eupatyny [Lee i in. 2016]. Wzbogacanie produktów mlecznych w niektóre zióła i przyprawy może podnieść ich wartość prozdrowotną. Liczne zióła wykazują bowiem właściwości m.in. przeciwutleniające, przeciwzapalne, przeciwcukrzycowe, przeciwnadciśnieniowe i przeciwbakteryjne. Właściwości bioaktywne wybranych ziół i przypraw przedstawiono w tabeli 13.

### **Możliwości ograniczenia nietolerancji pokarmowej na składniki mleka**

Do podstawowych czynności w codziennym życiu człowieka należy spożywanie pokarmów. Zdarza się jednak, że składnik pokarmowy może u niektórych ludzi wywołać niepożądane reakcje, w wyniku czego może dojść do stanu chorobowego, a w skrajnych przypadkach – doprowadzić nawet do zagrożenia życia [Nowicka-Jasztal i Bryl 2016].

Wyróżnia się 2 rodzaje nieprawidłowych reakcji na pokarm, tj. toksyczną i nietoksyczną. Reakcja toksyczna może wystąpić u każdej osoby i związana jest z dawką substancji przyjętej wraz z pokarmem. Reakcja nietoksyczna dotyczy wyłącznie osób wrażliwych na określony rodzaj pokarmu i nazywana jest nadwrażliwością pokarmową (ang. food hypersensitivity, FHS), w tym z towarzyszącym odczynem immunologicznym – zwanym alergią pokarmową (AP). Nadwrażliwość pokarmowa, która nie jest powodowana udziałem mechanizmów immunologicznych, klasyfikowana jest jako nadwrażliwość pokarmowa niealergiczna, określana także jako reakcja nietoksyczna lub reakcja niealergiczna. Obejmuje ona także zaburzenia enzymatyczne, następstwa reakcji farmakologicznych, a także mechanizmy idiosynkrazji. Odczyn anafilaktyczny indukowany spożytym pokarmem (ang. food-dependant exercise-induced anaphylaxis, FDEIA) czy reakcja na dodatki do żywności związane są z udziałem układu immunologicznego [Skypala 2010, Nowicka-Jasztal i Bryl 2016].

### **Alergia na białka mleka krowiego**

Mleko, jako pierwszy i podstawowy pokarm człowieka, niestety stanowi pierwszy obcy antygen. Jest ono jedną z najczęstszych przyczyn występowania reakcji alergicznych u dzieci, ale problem ten dotyczy również osób dorosłych [Pastuszka i in. 2016, Wąsik i in. 2018]. Sicherer i Sampson [2014] podają, że

odsetek alergii pokarmowych wśród dorosłych może wynosić ok. 5%, natomiast wśród dzieci ok. 8%. Marszałkowska i in. [2007], na podstawie badań obejmujących prawie 500 pacjentów z dodatnim wynikiem testów skórnych na alergeny pokarmowe, wykazali, że mleko krowie (26%) i ser (19%) znalazły się w grupie najczęściej alergizujących produktów. W przypadku mleka krowiego najwięcej dodatnich odczynów (28%) zaobserwowano w grupie wiekowej 19–74 lata. W badaniach kohortowych oceniających nadwrażliwość na mleko krowie za pomocą punktowego testu skórno (ang. skin prick test, SPT) u 543 dzieci w wieku 1–3 lat Dean i in. [2007] stwierdzili pozytywny wynik u 0,37% niemowląt, 0,92% 2-latków oraz 0,55% 3-latków. Balińska-Miśkiewicz [2014] wskazała, że 13% wszystkich śmiertelnych reakcji anafilaktycznych związanych było ze spożyciem białka mleka krowiego. Niestety u osób z alergią na mleko krowie mogą wystąpić reakcje krzyżowe po spożyciu mleka innych ssaków, w tym najczęściej koziego (92%) i kłaczy (4%), a także zjedzeniu wołowiny (10%) [Sicherer 2001]. Potwierdza się ustępowanie wraz z wiekiem objawów nadwrażliwości po spożyciu mleka, przy czym niestety u części osób utrzymują się one w wieku dorosłym [Balińska-Miśkiewicz 2014].

Opinie na temat znaczenia poszczególnych białek mleka krowiego w patogenie alergii nie są jednoznaczne [Pastuszka i in. 2016]. Wśród białek serwatkowych jako najważniejszy alergen mleka rozpoznawany przez przeciwciała IgE w surowicy dzieci uważa się  $\beta$ -laktoglobulinę, jako obcą gatunkowo. Jednak  $\alpha$ -laktoalbumina, która jest typowym białkiem mleka krowiego, może wywoływać także reakcje alergiczne [Wal 2001, Shamsia 2009, Barłowska i in. 2011, Pastuszka i in. 2016, Wąsik i in. 2018]. Alergenność białek serwatkowych może zostać częściowo zredukowana po zastosowaniu obróbki cieplnej. Niestety w przypadku kazeiny nawet wysoka temperatura i wywołana denaturacja nie obniżają jej alergenicności [Wąsik i in. 2018]. Pod względem właściwości alergicznych najlepiej poznano 2 frakcje kazeiny:  $\alpha_1$ -kazeinę i  $\beta$ -kazeinę. Kazeina- $\alpha_1$  jest fosfoproteiną o masie cząsteczkowej ok. 23 kD. W mleku krowim nie stwierdzono obecności chemicznego homologu  $\alpha_1$ -kazeiny o podobnej budowie i funkcji, co może być główną przyczyną jej immunogenicności u człowieka. Natomiast w mleku krowim występuje homolog  $\beta$ -kazeiny – fosfoproteiny o masie cząsteczkowej 24 kD. Cząsteczki białek obu frakcji kazeiny charakteryzuje obecność co najmniej 6 determinant antygenowych [Wąsik i in. 2018]. Badania przeprowadzone przez Gaudina i in. [2008] wskazują, że spośród białek kazeinowych najbardziej alergenna jest frakcja  $\alpha_1$ , a następnie:  $\alpha_2$ ,  $\beta$  i  $\kappa$ . Zdaniem Wal [2001] również laktoferyna może wykazywać właściwości alergizujące.

## **Nietolerancja laktozy**

Nietolerancja laktozy jest to niezdolność do trawienia laktozy, podstawowego disacharydu mleka, a wynika to z zatrzymania wytwarzania przez organizm

bądź obniżenia aktywności enzymu hydrolazy laktazy-floryzyny [Strzałkowska i in. 2018]. Choć nietolerancja laktozy nie stanowi poważnego zagrożenia dla zdrowia, powoduje dyskomfort, niepokój i zażenowanie u dużej liczby ludzi na całym świecie [Marchiondo 2009].

Laktaza (LCT) jest wytwarzana w ludzkim organizmie w rąbku szczoteczkowym nabłonka jelita cienkiego. Jej aktywność jest różna w poszczególnych odcinkach jelita. Największa jest w odcinku środkowym jelita czczego i maleje w kierunku proksymalnym (dwunastnica) i dystalnym (jelito kręte). Synteza LCT rozpoczyna się już w życiu płodowym, a najwyższa jej aktywność występuje u niemowląt. Wprowadzanie do diety dzieci produktów innych niż mleko wpływa na sukcesywne obniżenie jej aktywności. U młodzieży i dorosłych z hipolaktazją typu dorosłego (ang. adult-type hypolactasia, ATH) poziom aktywności LCT wynosi zaledwie 5–10% aktywności z okresu niemowlęctwa [Fidler-Witoń i in. 2011]. Po odstawieniu od piersi u ok. 30% populacji ludzkiej aktywność laktazy zostaje zachowana aż do dorosłości. Dzieje się tak głównie u ludzi pochodzenia północnoeuropejskiego i odnosi się geograficznie do regionów wprowadzenia hodowli bydła mlecznego ok. 10 tys. lat temu [Lomer i in. 2008].

Tabela 14. Nietolerancja laktozy u ludzi dorosłych różnych grup narodowościowych i etnicznych [Bulhões i in. 2007]

Grupy narodowościowe	Odsetek osób z nietolerancją laktozy (%)
Szwedzi	2
Australijczycy	4
Szwajcarzy	10
Finowie	18
Tutsi	20
Amerykanie	6–25
Afroamerykanie	45–81
Aborygeni	85
Indianie	50–75
Bantu	89
Azjaci	65–100

Laktaza rozkłada laktozę na składowe monomery glukozy i galaktozy, które mogą łatwo przenikać do krwiobiegu. W wątrobie galaktoza jest przekształcana w glukozę, która wchodzi do krwiobiegu i przyczynia się do zwiększenia ogólnego poziomu cukru we krwi [Strzałkowska i in. 2018]. Znane są 3 kliniczne postaci niedoboru laktazy: wrodzony, wtórny i pierwotny, który jest najczęstszy [Lomer i in. 2008, Marchiondo 2009]. Wrodzony niedobór laktazy występuje niezwykle rzadko, jest określany genetycznie i charakteryzuje się całkowitą niezdolnością do wytwarzania laktazy [Rychlik i Marszałek 2013]. Wtórny niedobór laktazy występuje w wyniku urazu jelit związanego z operacją przewodu

pokarmowego z zespołem krótkiego jelita, przewlekłą infekcją bakteryjną lub pasożytniczą, zaburzeniami, takimi jak ciężkie niedożywienie lub celiakia. Inne przyczyny obejmują enteropatię HIV, ciężkie zapalenie żołądka i jelit, zapalenie jelit wywołane radioterapią/chemioterapią lub chorobę Leśniowskiego-Crohna [Marchiondo 2009]. Pierwotna hipolaktazja jest stanem autosomicznym recesywnym (C/C), który charakteryzuje się stopniowym zmniejszaniem aktywności laktazy, ale nie występuje przed ukończeniem 2. r.ż. Przeważnie konstytucyjny niedobór laktazy objawia się samoczynnie między 5. a 6. r.ż. w populacji białej, a czasami wcześniej w populacji innej niż biała. W niektórych grupach rasowych nie występuje przed okresem dojrzewania. Jest to normalny stan u większości ludzi. W Europie częstość występowania pierwotnego późnego niedoboru laktazy waha się od 2% w Skandynawii do 70% w niektórych regionach Włoch (tab. 14), w populacji białej w USA wynosi ok. 20%, a w Azji jest bliska 100% [Vandenplas 2015]. Osoby wykazujące objawy hipolaktazji typu dorosłego (ATH) jako dorośli mają normalny poziom aktywności laktazy w okresie dzieciństwa. W przypadku tego typu nietolerancji całkowity brak wydzielania laktazy występuje rzadko. Określenie genetyczne ATH jest związane z polimorfizmem genu laktazy w obrębie regionu paramotorycznego tego genu na chromosomie 2q21. Genotypy 13910 C/T i 13910 T/T zachowują aktywność laktazy, natomiast genotyp 13910 C/C odpowiada za obniżoną aktywność tego enzymu [Hollox 2005, Strzałkowska i in. 2018].

## Nadwrażliwość pokarmowa na $\beta$ -kazeinę A1

W mleku krowim  $\beta$ -kazeina stanowi do 45% ogółu białek kazeinowych. W obrębie tej frakcji kazeiny u bydła zidentyfikowano 12 wariantów genetycznych warunkujących jej syntezę, tzn. A<sub>1</sub>, A<sub>2</sub>, A<sub>3</sub>, B, C, D, E, F, G, H<sub>1</sub>, H<sub>2</sub> i I [Barłowska i in. 2012b]. Najczęstszymi jednak formami u ras bydła mlecznego są A<sub>1</sub> i A<sub>2</sub>, które różnią się tylko 1 aminokwasem [Farrell i in. 2004]. Stanowią one 98% wszystkich alleli  $\beta$ -kazeiny. Wariant A<sub>2</sub> jest formą pierwotną i jest identyfikowany u bydła zebu w Afryce i Azji, guernsey, jersey, ras południowofrancuskich (charolais i limousin) oraz bawołów domowych utrzymywanych w Indiach [Barłowska i in. 2012b, Duarte-Vázquez i in. 2017, Priyadarshini i in. 2018]. Wariant A<sub>1</sub> powstał w wyniku niekorzystnej mutacji punktowej (C→A), która wystąpiła 5–10 tys. lat temu w niektórych stadach europejskich i jest charakterystyczny dla bydła ras współczesnych. W tabeli 15 przedstawiono częstość występowania alleli  $\beta$ -kazeiny u bydła różnych ras.

Wariant A<sub>1</sub> w pozycji 67 łańcucha aminokwasowego posiada histydynę, natomiast wariant A<sub>2</sub> – prolinę. Obecność histydyny w trakcie trawienia białka mleka w jelicie cienkim powoduje uwalnianie 7-aminokwasowego bioaktywnego peptydu, zwanego  $\beta$ -kazomorfina-7 (BCM-7). Z kolei prolina zapobiega rozpadowi i wytwarza peptyd BCM-9 [Demirel i Bahattin 2018]. W latach 90. XX w. rozszerzono analizy dotyczące polimorfizmu  $\beta$ -kazeiny o aspekty związane z wpływem jej



Tabela 15. Frekwencja alleli  $\beta$ -kazeiny u różnych ras bydła [Kamiński i in. 2007]

Rasa bydła	Kraj	Liczba zwierząt	Frekwencja alleli $\beta$ -kazeiny		
			B	A <sub>1</sub>	A <sub>2</sub>
Guernsey	USA	400	–	0,010	
	USA	3861	0,010–0,020	0,010–0,060	0,880–0,970
Jersey	Niemcy	43	0,186	0,093	0,721
	Dania	157	0,350	0,070	0,580–0,650
	Nowa Zelandia	1328	–	0,123	0,591
	USA	387	0,290–0,370	0,090–0,220	0,490–0,540
Brown Swedish	Niemcy	232	0,170	0,108	0,705
	USA	282	0,100–0,180	0,140–0,150	0,660–0,720
	USA	259	0,100–0,180	0,140–0,180	0,660–0,720
Simmental	Chorwacja	621	0,150	0,190	0,630
	Niemcy	229	–	0,343	0,566
Holstein-friesian	USA	526	0,010–0,060	0,310–0,660	0,240–0,620
	USA	6000	0,010–0,040	0,310–0,490	0,490–0,620
	Węgry	768	0,107	0,418	0,470
	Niemcy	229	0,026	0,472	0,496
	Polska	143	–	0,402	0,598
	Nowa Zelandia	3761	–	0,465	0,510
	Norwegia	306	0,010	0,400	0,490
Black-and-white Denmark	Dania	223	0,030–0,080	0,550	0,390
Red-and-white Sweden	Szwecja	394	0,008	0,460	0,531
	Niemcy	179	0,020	0,573	0,366
Ayrshire	Nowa Zelandia	37	–	0,432	0,527
	Finlandia	686	0,001	0,509	0,490
	Zjednoczone Królestwo	29	0–0,003	0,600	0,400
	USA	45	0	0,720	0,280
Red	Dania	169	0,044–0,060	0,710	0,230

wariantów na zdrowie człowieka. Większość tych prac skupia się na potencjalnym, negatywnym wpływie peptydu BCM-7 na zdrowie człowieka. Jest to opioid, który może zwiększać ryzyko wystąpienia chorób o podłożu autoimmunologicznym, w tym cukrzycy typu 1, alergicznego zapalenia dróg oddechowych, chorób układu krążenia, zaburzeń żołądkowo-jelitowych podobnych do nietolerancji laktozy, schizofrenii i autyzmu oraz syndromu nagłej śmierci noworodków [Cade i in. 2000, Sun i in. 2003, Birgisdottir i in. 2006, Woodford 2007, Kost i in. 2009, Haq i in. 2014, Ho i in. 2014, Pal i in. 2015, Jianqin i in. 2016, Brooke-Taylor i in. 2017, Chia i in. 2017, Guantario i in. 2020, Yadav i in. 2020]. Większość tych badań została przeprowadzona jednak na zwierzętach laboratoryjnych i część badaczy uważa, że wyników tych nie można w pełni odnieść do człowieka, zaś wykonane w naturalnych warunkach na ludziach dały

wręcz sprzeczne wyniki [Truswell 2005, Chin-Dusting i in. 2006, Kumar i in. 2017, Hegde i in. 2019]. Dlatego też Europejski Urząd ds. Bezpieczeństwa Żywności (EFSA) podjął się oceny potencjalnego wpływu  $\beta$ -kazomorfin i związanych z nimi peptydów na zdrowie człowieka. Raport EFSA [2009] wskazuje, że nie można ustalić związku przyczynowo-skutkowego pomiędzy spożyciem BCM-7 w diecie a etiologią lub przebiegiem wszystkich sugerowanych chorób. Niewiele bowiem wiadomo o mechanizmach przenoszenia nienaruszonych peptydów dłuższych niż 3 aminokwasy przez barierę jelitową. Nawet jeśli tak się dzieje, to transfer jest bardzo niski dzięki dyfuzji biernej. W żadnym z dotychczas przeprowadzonych badań *in vivo* nie stwierdzono obecności nienaruszonych cząsteczek  $\beta$ -kazomorfiny we krwi po spożyciu mleka lub kazeiny [Hegde i in. 2019]. Ponadto widoczny jest dość duży konflikt interesów związany z tego typu badaniami, gdyż w niektórych krajach mleko jest podstawowym źródłem białka zwierzęcego dla większości ludności. We Włoszech natomiast zdecydowana większość mleka przeznaczana jest na produkcję serów twardych i tam duży nacisk kładzie się na parametry krzepliwości mleka, które w dużej mierze związane są z wariantami  $\kappa$ -kazeiny (korzystny allel B). Jak wskazują wyniki badań Chessa i in. [2020], selekcja była w kierunku zwiększenia częstotliwości występowania wariantu A1  $\beta$ -kazeiny może pogorszyć jakość mleka pod tym względem.

## Selekcjonowanie mleka A2

„Mleko A2” to nazwa handlowa mleka pochodzącego od krów posiadających genotyp  $A_2A_2$   $\beta$ -kazeiny. Jest przede wszystkim przeznaczone dla osób, u których występuje nietolerancja mleka, w tym zaburzenia żołądkowo-jelitowe lub autyzm. W niektórych krajach jest możliwość zakupu takiego mleka w sklepach, dzięki czemu konsument nie musi rezygnować ze spożywania mleka czy produktów mlecznych [Radkowska 2020]. Selekcję mleka A2 rozpoczęła Nowa Zelandia. W 2000 r. została założona firma A2 Corporation Ltd. w celu testowania krów i sprzedaży mleka wyłącznie z wersją A2 beta-kazeiny. Firma opracowała zestaw testów DNA ukierunkowanych na określenie wariantu  $\beta$ -kazeiny. Jedynym zatem sposobem selekcjonowania takiego mleka jest informacja o genotypie krowy, a w dalszej kolejności selekcja stada i kojarzenie krów z buhajami o genotypie  $\beta$ -CN  $A_2A_2$ . Od 2003 r. mleko A2 jest sprzedawane w Nowej Zelandii i Australii jako marka premium [Kamiński i in. 2007]. Obecnie mleko to staje się dostępne w coraz większej liczbie krajów, tj. Stany Zjednoczone, Australia, Wielka Brytania i Holandia. Mieszanka dla noworodków zawierająca wariant A2  $\beta$ -kazeiny jest dostępna w Chinach oraz Australii i jest reklamowana w handlu jako łagodniejsza dla układu pokarmowego niemowlęcia [Brooke-Taylor i in. 2017]. W Polsce temat ten dopiero zyskuje na popularności. Wśród konsumentów rośnie bowiem świadomość występowania różnych wariantów  $\beta$ -kazeiny w mleku i ich wpływu na zdrowie. Pojawia się zatem pewnego rodza-

ju nisza dla mleczarni, które część lub całość swojej produkcji chciałyby w przyszłości skierować na rynek dla tej grupy konsumentów. Również Laboratorium Genetyki Bydła Polskiej Federacji Hodowców Bydła i Producentów Mleka (PFHBiPM) kieruje swoją ofertą dla hodowców bydła mlecznego. Hodowca może się dowiedzieć, jaki potencjał genetyczny pod względem wariantu  $\beta$ -kazeiny ma jego stado. Wystarczy, że skontaktuje się z odpowiednim doradcą ds. hodowli lub z Laboratorium Genetyki Bydła zs. w Parzniewie. Doradca pobiera materiał do badań (tkankę z ucha), sporządza protokół z danymi oraz wysyła go do laboratorium. Raport z badania wydawany jest dla każdej badanej sztuki [PFHBiPM 2020].

### **Możliwości ograniczenia alergii na białka mleka krowiego**

Niemowlęta powinny być karmione wyłącznie pokarmem matki przez pierwsze 4–6 miesięcy życia (zalecenia ESPGHAN, ang. European Society for Paediatric Gastroenterology Hepatology and Nutrition). Dopuszczalne jest jedynie podawanie witamin. W praktyce karmienie naturalne z różnych przyczyn nie zawsze jest możliwe. W Polsce utworzono banki mleka kobiecego, ale w przypadku wystąpienia przeciwwskazań lub braku możliwości korzystania z takiego banku konieczne jest korzystanie z alternatywnych pokarmów [Pawłowicz i in. 2015]. Wartościowym pokarmem podawanym niemowlętom „w zastępstwie” mleka matki jest mleko krowie, ale niestety może wywoływać alergię. Alergia na mleko krowie (ang. cow’s milk allergy, CMA) jest najczęstszą alergią pokarmową we wczesnym dzieciństwie, a jej częstość występowania szacuje się na 2–3% [Sicherer 2011]. Dlatego też obecnie rekomendowanym substytutem mleka kobiecego są głównie hydrolizaty białek mleka (kazeiny lub białek serwatkowych), ale także preparaty na bazie białka soi lub preparaty zawierające wyłącznie mieszaninę wolnych aminokwasów. Dla celów medycznych produkowane są mieszanki elementarne (koktajle aminokwasowe) podawane w postaci wlewów dożylnych [Iwańczak 2002]. W celu hydrolizy białek mleka stosowane są w przemyśle enzymy proteolityczne pochodzenia zwierzęcego (np. trypsyna, pepsyna, pankreatyna, chymotrypsyna), roślinnego (np. papaina), bakteryjnego (np. *Bacillus subtilis*) i grzybowego (np. *Aspergillus oryzae*). Zmiana właściwości immunoreaktywnych uzależniona jest od warunków prowadzenia hydrolizy, w tym wartości pH [Wróblewska i in. 2007]. Canani i in. [2013], prowadząc wielośrodkowe badania we Włoszech, porównywali skuteczność stosowania różnych rodzajów odżywek u 260 dzieci przez okres 12 miesięcy. Stwierdzili, że po tym okresie 78,9% dzieci z CMA nabyło tolerancję przy stosowaniu odżywki z intensywnie hydrolizowaną kazeiną i dodatkiem *Lactobacillus rhamnosus* GG, 43,6% przy podawaniu odżywki kazeinowej bez bakterii probiotycznych, 32,6% po zastosowaniu hydrolizowanej odżywki ryżowej, 23% – otrzymując odżywki sojowe i 18,2% – odżywki aminokwasowe.

Alternatywnym źródłem pożywienia dla niemowląt z alergią na białka mleka krowiego może też być mleko koniowatych (kłaczy i oślic). Mleko tych gatunków zwierząt charakteryzuje się dużym podobieństwem pod względem składu chemicznego (zawartości laktozy, białka i popiołu) do mleka kobiecego (tab. 16). Jednak jego dostępność jest w Polsce ograniczona [Pastuszka i in. 2016].

Tabela 16. Skład frakcji białkowej mleka różnych gatunków ssaków [Pastuszka i in. 2016]

Skład frakcji białkowej (g/l)		Rodzaj mleka			
		krowie	kobyle	ośle	ludzkie
Frakcje kazeinowe	$\alpha$ s <sub>1</sub> -kazeina	9,55	2,4	1,5	–
	$\alpha$ s <sub>2</sub> -kazeina	1,56	0,20	0,11	–
	$\beta$ -kazeina	11,38	10,66	3,87	3–5
	$\kappa$ -kazeina	3,26	0,24	–	1–3
Białka serwatkowe	$\alpha$ -laktoalbumina	1,06	2,26	1,97*	2–3
	$\beta$ -laktoglobulina	3,11	2,60	4,13*	–
	albumina serum	0,46	0,30	–	0,3
	laktoferyna	0,105	1,30	0,08	1–3
	lizozym	$1,02 \cdot 10^{-5}$	1,03	0,94*	0,1–0,89

\* – zawartość białek w 90. dniu po porodzie

Mleko oślic ze względu na małą zawartość kazeiny i stosunkowo dużą białek serwatkowych (53,03–57,06% białka ogólnego) jest najbardziej podobne do mleka ludzkiego [Guo i in. 2007, Barłowska i in. 2011]. Mleko kłaczy również odznacza się mniejszą zawartością białka (1,90%) w porównaniu z mlekiem krowim (3,42%) [Barłowska i in. 2011]. Zawiera mniej białek kazeinowych (o ok. 40%), a więcej serwatkowych i azotu niebiałkowego [Salimei i in. 2004, Jasińska i Skryplonek 2013]. Odznacza się również podobnym do mleka ludzkiego stosunkiem białek serwatkowych do kazeinowych (2,08), dzięki czemu może być potencjalnie jego dobrym zamiennikiem [Uniacke-Lowe 2011]. W mleku oślim i kobyli  $\beta$ -laktoglobulina stanowi ok. 40% białek serwatkowych, podczas gdy w krowim – ok. 50% [Madureira i in. 2007, Szulc i Barłowska 2020]. Jednakże w mleku oślim  $\beta$ -laktoglobulina występuje w formie monomeru, a w mleku przeżuwaczy jako dimer [Polidori i Vincenzetti 2012]. Mleko ośle dodatkowo zawiera duże ilości lizozymu (13,13–15,34% białka ogólnego) [Vincenzetti i in. 2005]. Jest ono zatem bogatszym źródłem tego enzymu niż mleko ludzkie, w którym udział tego enzymu stanowi 3,49% białka ogólnego [Guo i in. 2007]. Również mleko kobyłe jest zasobne w lizozym – zawiera go bowiem 400–890 mg/l, podczas gdy ludzkie 100–890 mg/l [Król i Brodziak 2015]. Businco i in. [2000] wskazują, że mleko kłaczy jest tolerowane przez 96% dzieci z IgE-zależną alergią na białka mleka krowiego. Dobrym substytu-

tem mleka ludzkiego może być również mleko wielbłądzie, gdyż nie zawiera  $\beta$ -laktoglobuliny [Konuspayeva i in. 2009, Barłowska i in. 2011]. Mleko to wykazuje właściwości terapeutyczne i antybakteryjne ze względu na wyższą zawartość substancji antybakteryjnych, tj. lizozym (0,73–5 mg/l), laktoferyna (200–728 mg/l) [Król i Brodziak 2015, Pastuszka i in. 2016].

### **Usuwanie lub ograniczanie zawartości laktozy w mleku i produktach mlecznych**

Najczęściej stosowaną metodą wytwarzania produktów o obniżonej zawartości laktozy lub bez laktozy, skierowanych do konsumentów z nietolerancją laktozy jest hydroliza z wykorzystaniem preparatów enzymatycznych ( $\beta$ -D-galaktozydazy) pochodzących z różnych źródeł [Kowalewska-Piontas i Bednarski 1999]. Obecność  $\beta$ -galaktozydazy stwierdzono w komórkach grzybów strzępkowych, m.in. *Aspergillus niger*, *Aspergillus oryzae*, *Aspergillus flavus*, w komórkach drożdży, np. *Kluyveromyces marxianus*, *Kluyveromyces fragilis* oraz w komórkach innych szczepów bakterii z rodzaju *Lactococcus*, *Lactobacillus*, *Escherichia*, *Aerobacter* oraz *Shigella* [Bednarski i Kowalewska-Piontas 2000]. W zależności od rodzaju drobnoustrojów stosowanych do jej biosyntezy różni się właściwościami, np. optimum pH, temperatury, aktywnością oraz stabilnością. Najważniejszym parametrem jest jednak początkowe stężenie laktozy w roztworze w zakresie 10–30% [Kowalewska-Piontas i Bednarski 1999]. W składzie produktów enzymatycznej hydrolizy laktozy obok glukozy i galaktozy powstają galaktooligosacharydy (GOS). Są one ważnymi prebiotykami, które poprawiają funkcjonowanie jelit poprzez promowanie wzrostu probiotycznej flory bakteryjnej jelit – *Bifidobacteria* i *Lactobacilli* [Zerva i in. 2021]. Ponadto GOS wykazują właściwości antyadhezyjne i inhibicyjne wobec wielu patogenów [Demczuk i in. 2004]. Ważnym kierunkiem zastosowania  $\beta$ -galaktozydazy jest hydroliza laktozy w serwatce lub permeacie pozostającym po ultrafiltracji mleka. Hydroliza enzymatyczna prowadzona w specjalnie dobranych warunkach prowadzi do powstawania laktulozy [Kowalewska-Piontas i Bednarski 1999]. Danków i in. [2009] podają, że w mleku pasteryzowanym bezpośrednio po produkcji stopień hydrolizy laktozy wyniósł 81,7%, a w czasie przechowywania przez okres od 3 do 9 dni wzrósł jedynie o 0,1%. Proces hydrolizy laktozy ma jednak pewne wady pod względem słodczy. Podano, że słodkość laktozy po procesie hydrolizy wzrasta do 70% w stosunku do sacharozy [Novalin i in. 2005]. Może to być zaletą lub wadą w zależności od przeznaczenia produktów. Usunięcie laktozy może również poprawić jej rozpuszczalność, stabilność podczas przechowywania i funkcjonalność [Vyas i in. 2003, Novalin i in. 2005]. Innym podejściem do oddzielenia laktozy jest krystalizacja. Metoda ta jest jednak ograniczona do produktów z serwatki lub permeatu serwatki [Vyas i Tong 2003]. W XXI w. technologia membranowa zyskała większe zainteresowanie ze względu na proces oszczędzania energii. Membrany ultrafiltracyjne

(UF) mają odcięcie masy cząsteczkowej w zakresie 1000–500 000 Da. Składniki mleka o niskiej masie cząsteczkowej (woda, laktoza, sole mineralne i peptydy) przenikają przez membranę. W retentacie zatrzymywane są natomiast składniki wielkocząsteczkowe, tj. kuleczki tłuszczowe, białka mleka, związki mineralne związane z kazeiną (głównie wapń i fosfor), ale także i mikroorganizmy [Limsawat i Pruksasri 2010]. Przykładowo, wapń można odzyskać przez ogrzewanie i dostosowanie pH permeatu [Vyas i Tong 2003]. Limsawat i Pruksasri [2010] wskazali, że w wyniku zastosowania UF można osiągnąć wysoki stopień eliminacji laktozy z mleka przy jednocześnie minimalnej stracie białka.

## Podsumowanie

Podsumowując, należy podkreślić, że podejmowane badania dotyczące technologii produkcji i przetwarzania mleka o podwyższonej zawartości składników bioaktywnych lub obniżających nadwrażliwość pokarmową są bardzo istotne, szczególnie w kontekście narastającego problemu chorób cywilizacyjnych, w tym sercowo-naczyniowych, przewodu pokarmowego, psychicznych, otyłości, alergii i nietolerancji pokarmowych. Jak wskazano, doskonałym surowcem do przetwórstwa jest mleko pozyskiwane od krów ras lokalnych, utrzymywanych zazwyczaj w gospodarstwach stosujących tradycyjny system żywienia. Stosowanie mleka charakteryzującego się wysoką wartością odżywczą, w tym zawartością związków biologicznie czynnych, bezpośrednio przekłada się na wytwarzanie wysokiej jakości produktów mlecznych o szczególnych właściwościach prozdrowotnych.

## Piśmiennictwo

- Aimutis W.R., 2004. Bioactive properties of milk proteins with particular focus on anticarcinogenesis. *J. Nutr.* 8, 989–995, <https://doi.org/10.1093/jn/134.4.989S>
- Alothman M., Hogan S.A., Hennessy D., Dillon P., Kilcawley K.N., O'Donovan, M., Tobin J., Fenelon M.A., O'Callaghan T.F., 2019. The „grass-fed” milk story: Understanding the impact of pasture feeding on the composition and quality of bovine milk. *Foods* 8, 350, <https://doi.org/10.3390/foods8080350>
- Aro A., Männistö S., Salminen I., 2000. Inverse association between dietary and serum conjugated linoleic acid and risk of breast cancer in postmenopausal women. *Nutr. Cancer.* 8(2), 151–157, [https://doi.org/10.1207/S15327914NC382\\_2](https://doi.org/10.1207/S15327914NC382_2)
- Artym J., 2016. *Laktoferyna – niezwykle białko*. Wyd. Borgis, Warszawa.
- Baby B., Antony P., Vijayan R., 2018. Antioxidant and anticancer properties of berries. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 58(15), 2491–2507, <https://doi.org/10.1080/10408398.2017.132919>
- Balakrishnan G., Agrawal R., 2014. Antioxidant activity and fatty acid profile of fermented milk prepared by *Pediococcus pentosaceus*. *J. Food Sci. Technol.* 51, 4138–4142.
- Balińska-Miśkiewicz W., 2014. Diagnostyka molekularna alergii pokarmowej – czy wiemy więcej? *Postepy. Hig. Med. Dosw.* 68, 754–767.

- Barłowska J., Chabuz W., Król J., Szwałkowska M., Litwińczuk Z., 2012a. Wartość odżywcza i przydatność technologiczna mleka produkowanego w systemie intensywnym i tradycyjnym w trzech rejonach wschodniej Polski. *Żywn. Nauk. Technol. J.* 4(83), 122–135.
- Barłowska J., Litwińczuk Z., 2009. Właściwości odżywcze i prozdrowotne tłuszczu mleka. *Med. Weter.* 65, 171–174.
- Barłowska J., Litwińczuk Z., Król J., Kędzierska-Matysek M., 2006. Fatty acid profile and minerals content in milk from cows of various breeds over spring-summer feeding period. *Pol. J. Food Nutr. Sci.* 15/56(SI), 13–16.
- Barłowska J., Litwińczuk Z., Topyła B., 2005. Parametry fizykochemiczne tłuszczu mleka krów różnych ras z okresu żywienia wiosenno-letniego. *Med. Weter.* 61(8), 937–939.
- Barłowska J., Szwałkowska M., Litwińczuk Z., Król J., 2011. Nutritional value and technological suitability of milk from various animal species used for dairy production. *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.* 10, 291–302, <https://doi.org/10.1111/j.1541-4337.2011.00163.x>
- Barłowska J., Wolanciuk A., Kędzierska-Matysek M., Litwińczuk Z., 2013. Wpływ sezonu produkcji na podstawowy skład chemiczny oraz zawartość makro- i mikroelementów w mleku krowim i kozim. *Żywn. Nauk. Technol. J.* 6(91), 69–78.
- Barłowska J., Wolanciuk A., Litwińczuk Z., Król J., 2012b. Milk proteins' polymorphism in various species of animals associated with milk production utility. [W:] W.L. Hurley (red.), *Milk protein, InTech*, 235–264.
- Bednarski W., Kowalewska-Piontas J., 2000. Możliwości doskonalenia cech technologicznych  $\beta$ -galaktozydazy oraz warunków jej mikrobiologicznej biosyntezy. *Biotechnologia* 2(49), 131–141.
- Bekere H., Husen M., 2020. Review on the composition of milk of different farm animal. *AJPAB*, <https://dx.doi.org/10.2139/ssrn.3713853>
- Bergamo P., Fedele E., Iannibelli L., Marzillo G., 2003. Fat-soluble vitamin contents and fatty acid composition in organic and conventional Italian dairy product. *Food Chem.* 82, 625–631. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(03\)00036-0](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(03)00036-0)
- Bilandzić N., Sedak M., Đokić M., Božić D., Kolanović B.S., Varenina I., 2015. Differences in macro- and microelement contents in milk and yoghurt. *Archiv. Biol. Sci.* 67(4), 1391–1397, <https://doi.org/10.2298/ABS140312117B>
- Birgisdottir B.E., Hill J.P., Thorsson A.V., Thorsdottir I., 2006. Lower consumption of cow milk protein A1  $\beta$ -Casein at 2 years of age, rather than consumption among 11- to 14-year-old adolescents, may explain the lower incidence of type 1 diabetes in Iceland than in Scandinavia. *Ann. Nutr. Metab.* 50(3), 177–83, <https://doi.org/10.1159/000090738>
- Brodziak A., Król J., Barłowska J., 2017. Mleko i produkty mleczne źródłem składników biologicznie czynnych. *Przem. Spoż.* 71(10), 8–13.
- Brodziak A., Król J., Barłowska J., Litwińczuk Z., Teter A., Kędzierska-Matysek M., 2020. Differences in bioactive protein and vitamin status of milk obtained from Polish local breeds of cows. *Ann. Anim. Sci.* 20, 287–298, <https://doi.org/10.2478/aoas-2019-0069>
- Brodziak A., Król J., Litwińczuk Z., 2015. Whey protein content and fatty acids profile in milk of cows used in intensive and conventional production systems with regard to stage of lactation. *Turk. J. Vet. Anim. Sci.* 39, 745–750, <https://doi.org/10.3906/vet-1509-48>
- Brodziak A., Król J., Litwińczuk Z., Barłowska J., 2018a. Differences in bioactive protein and vitamin status of milk from certified organic and conventional farms. *Int. J. Dairy Technol.* 71(2), 321–332, <https://doi.org/10.1111/1471-0307.12462>
- Brodziak A., Król J., Litwińczuk Z., Florek M., 2021a. Bioactive compound levels and sensory quality of partially skimmed organic yoghurts: Effects of the milk treatment, production season and starter culture. *Int. J. Dairy Technol.* 74(1), 139–147, <https://doi.org/10.1111/1471-0307.12740>
- Brodziak A., Król J., Matwijczuk A., Czernecki T., Glibowski P., Wlazło Ł., Litwińczuk A., 2021b. Effect of sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) mousse on properties of probiotic yoghurt. *Appl. Sci.* 11, 545, <https://doi.org/10.3390/app11020545>
- Brodziak A., Król J., Wolanciuk A., Barłowska J., Kędzierska-Matysek M., 2018b. Ocena jakości mlecznych napojów fermentowanych produkowanych na bazie mleka krów rasy simentalskiej utrzymywanych w gospodarstwach ekologicznych. [W:] J. Słupski, T. Tarko,

- I. Drożdż (red.), Surowce pochodzenia zwierzęcego jako źródło składników bioaktywnych. Wyd. Oddział Małopolski PTTŻ, Kraków, 44–52.
- Brodziak A., Litwińczuk Z., Król J., 2013. Albuminy mleka – właściwości fizykochemiczne i funkcje biologiczne. *Przem. Spoż.* 67(10), 32–34.
- Brodziak A., Wajs J., Zuba-Ciszewska M., Król J., Stobiecka M., Jańczuk A., 2021c. Organic *versus* conventional cow milk – raw material for processing. *Animals*, manuscript ID: animals-1263738.
- Brooke-Taylor S., Dwyer K., Woodford K., Kost N., 2017. Systematic review of the gastrointestinal effects of A1 compared with A2  $\beta$ -casein. *Adv. Nutr.* 8, 739–748, <https://doi.org/10.3945/an.116.013953>
- Bryszak M., Szumacher-Strabel M., El-Sherbiny M., Stochmal A., Oleszek W., Rój E., Patra A.K., Cieślak A., 2019. Effects of berry seed residues on ruminal fermentation, methane concentration, milk production, and fatty acid proportions in the rumen and milk of dairy cows. *J. Dairy Sci.* 102, 1257–1273, <https://doi.org/10.3168/jds.2018-15322>
- Bulhões A.C., Goldani H.A.S., Oliveira F.S., Matte U.S., Mazzuca R.B., Silveira T.R., 2007. Correlation between lactose absorption and the C/T-13910 and G/A-22018 mutations of the lactase-phlorizin hydrolase (LCT) gene in adult-type hypolactasia. *Braz. J. Med. Biol. Res.* 40, 1441–1446, <https://doi.org/10.1590/S0100-879X2007001100004>
- Businco L., Giampietro P.G., Lucenti P., Lucaroni F., Pini C., Di Felice G., Iacovacci P., Curadi C., Orlandi M., 2000. Allergenicity of mare's milk in children with cow's milk allergy. *J. Allergy Clin. Immunol.* 105, 1031–1034, <https://doi.org/10.1067/mai.2000.106377>
- Butler G., Nielsen J., Slots T., Seal C., Eyre M., Sanderson R., Leifert C., 2008. Fatty acid and fat-soluble antioxidant concentrations in milk from high- and low-input conventional and organic systems: seasonal variation. *J. Sci. Food. Agric.* 88, 1431–1441. <https://doi.org/10.1002/jsfa.3235>
- Cade R., Privette M., Fregly M., Rowland N., Sun Z., Zele V., 2000. Autism and schizophrenia: intestinal disorders. *Nutr. Neurosci.* 3(1), 57–72, <https://doi.org/10.1080/1028415X.2000.11747303>
- Canani R.B., Nocerino R., Terrin G., Frediani T., Lucarelli S., Cosenza L., Passariello A., Leone L., Granata V., Di Costanzo M., Pezzella V., Troncone R., 2013. Formula selection for management of children with cow's milk allergy influences the rate of acquisition of tolerance: a prospective multicenter study. *J. Pediatr.* 163, 771–777, [10.1016/j.jpeds.2013.03.008](https://doi.org/10.1016/j.jpeds.2013.03.008)
- Caroli A.M., Chessa S., Erhardt G.J., 2009. Invited review: Milk protein polymorphism in cattle: Effect on animal breeding and human nutrition. *J. Dairy Sci.* 92, 5335–5352, <https://doi.org/10.3168/jds.2009-2461>
- Chatterton D.E.W., Nguyen D.N., Bering S.B., Sangild P.T., 2013. Anti-inflammatory mechanisms of bioactive milk proteins in the intestine of newborns. *Int. J. Biochem. Cell Biol.* 45(8), 1730–1747, <https://doi.org/10.1016/j.biocel.2013.04.028>
- Chen J., Lindmark-Mansson H., Gorton L., Akesson B., 2003. Antioxidant capacity of bovine milk as assayed by spectrophotometric and amperometric methods. *Int. Dairy J.* 13, 927–935, [https://doi.org/10.1016/S0958-6946\(03\)00139-0](https://doi.org/10.1016/S0958-6946(03)00139-0)
- Chessa S., Gattolin S., Cremonesi P., Soglia D., Finocchiaro R., Van Kaam J-T., Maurizio Marusi M., Giorgio Civati G., 2020. The effect of selection on casein genetic polymorphisms and haplotypes in Italian Holstein cattle. *Ital. J. Anim. Sci.* 19(1), 833–839, <https://doi.org/10.1080/1828051X.2020.1802356>
- Chia J.S.J., McRae J.L., Kukuljan S., Woodford, K., Elliott, R.B., Swinburn, B., Dwyer K.M., 2017. A1 beta-casein milk protein and other environmental pre-disposing factors for type 1 diabetes. *Nutr. Diabetes.* 7, 1–7, <https://doi.org/10.1038/nutd.2017.16>
- Chilliard Y., Ferlay A., 2004. Dietary lipids and forages interactions on cow and goat milk fatty acid composition and sensory properties. *Reprod. Nutr. Dev.* 44, 467–492, <https://doi.org/10.1051/rnd:2004052>
- Chin-Dusting J., Shennan J., Jones E., Williams C., Kingwell B., Dart A., 2006. Effect of dietary supplementation with beta casein A1 or A2 on markers of disease development in individuals at high risk of cardiovascular disease. *Br. J. Nutr.* 95(1), 136–44.
- Cichosz G., Czeczot H., 2012. Tłuszcz mlekowy w profilaktyce chorób nowotworowych. *Pol. Merk. Lek.* 33(195), 168–172.



- Collomb M., Sollberg H., Butikofer U., Siebier R., Stoll W., Schaeren W., 2004. Impact of basal diet of hay and fodder beet supplemented with rapeseed, linseed and sunflower on the fatty acid composition of milk fat. *Int. Dairy J.* 14, 549–559, <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2003.11.004>
- Danków R., Cais-Sokolińska D., Pikul J., 2009. Charakterystyka mleka pasteryzowanego poddawanego enzymatycznej hydrolizie laktozy. *Nauka Przyr. Technol.* 3(4), 1–6.
- Darewicz M., Borawska J., Minkiewicz P., Iwaniak A., Starowicz P., 2015. Biologicznie aktywne peptydy uwalniane z białek żywności. *Żywn. Nauk. Technol. J.* 3(100), 26–41.
- De La Torre-Santos S., Royo L.J., Martínez-Fernánd A., Chocarro C., Vicente F., 2020. The mode of grass supply to dairy cows impacts on fatty acid and antioxidant profile of milk. *Foods* 9, 1256, <https://doi.org/10.3390/foods9091256>
- Dean T., Venter C., Pereira B., Arshad S.H., Grundy J., Clayton C.B., Higgins B., 2007. Patterns of sensitization to food and aeroallergens in the first 3 years of life. *J. Allergy. Clin. Immunol.* 120, 1166–1171, <https://doi.org/10.1111/all.12423>
- Demczuk A., Bednarski W., Kowalewska-Piontas J., Górska J., 2004. Wzbogacanie w oligosacharydy odcieków po ultrafiltracji mleka i ich zastosowanie w produkcji jogurtu. *Żywn. Nauk. Technol. J.* 3(40), 53–62.
- Demirel A.F., Bahattin Ç., 2018. Discussions of effect A1 and A2 milk beta-casein gene on health. *Appro. Poult. Dairy Vet. Sci.* 3(2), 1–6, <https://doi.org/10.31031/APDV.2018.03.000556>
- Diarra M.S., Petitelere D., Lacasse P., 2002. Effect of lactoferrin in combination with penicillin on the morphology and the physiology of *Staphylococcus aureus* isolated from bovine mastitis. *J. Dairy Sci.* 85, 1141–1149.
- Dopieralska P., Barłowska J., Teter A., Król J., Brodziak A., Domaradzki P., 2020. Changes in fatty acid and volatile compound profiles during storage of smoked cheese made from the milk of native Polish cow breeds raised in the Low Beskids. *Animals* 10(11), Article no. 2103, <https://doi.org/10.3390/ani10112103>
- Drewnowski A., 2011. The contribution of milk and milk products to micronutrient density and affordability of the US diet. *J. Am. Coll. Nutr.* 30, 422–428, <https://doi.org/10.1080/07315724.2011.10719986>
- Duarte-Vázquez M.Á., García-Ugalde C., Villegas-Gutiérrez L.M., García-Almendárez B.E., Rosado, J.L., 2017. Production of cow's milk free from beta-casein A1 and its application in the manufacturing of specialized foods for early infant nutrition. *Foods* 6(7), 50, <https://doi.org/10.3390/foods6070050>
- Dunshea F.R., Walker G.P., Williams R., Doyle P.T., 2019. Mineral and citrate concentrations in milk are affected by seasons, stage of lactation and management practices. *Agriculture* 9, 25, <https://doi.org/10.3390/agriculture9020025>
- EFSA, 2009. Scientific Report of EFSA prepared by a DATEX Working Group on the potential health impact of  $\beta$ -casomorphins and related peptides. European Food Safety Authority Science Report, 1–107.
- El-Sayed M., Awad S., 2019b. Milk bioactive peptides: Antioxidant, antimicrobial and anti-diabetic activities. *Adv. Biochem.* 7(1), 22–33, <https://doi.org/10.11648/j.ab.20190701.15>
- El-Sayed S.M., Youssef A.M., 2019a. Potential application of herbs and spices and their effects in functional dairy products. *Heliyon* 5, e01989, <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2019.e01989>
- Fang B., Zhang M., Wu H., Fand X., Ren F., 2017. Internalization properties of the anti-tumor  $\alpha$ -lactalbumin-oleic acid complex. *Int. J. Biol. Macromol.* 96, 44–51. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2016.12.031>
- Farrell Jr. H.M., Jimenez-Flores R., Bleck G.T., Brown E.M., Butler J.E., Creamer L.K., Hicks C.L., Hollar C.M., Ng-Kwai-Hang K.F., Swaisgood H.E., 2004. Nomenclature of the proteins of cows' milk – Sixth revision. *J. Dairy Sci.* 87(6), 1641–1674, [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(04\)73319-6](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(04)73319-6)
- Ferreiro T., Gayoso L., Rodríguez-Otero J.L., 2015. Milk phospholipids: Organic milk and milk rich in conjugated linoleic acid compared with conventional milk. *J. Dairy Sci.* 98, 9–14.
- Fidler-Witoń E., Mądry E., Krasińska B., Walkowiak J., 2011. Nietolerancja laktozy i jej uwarunkowania. *Family Med. Prim. Care Rev.* 13(2), 308–310.

- FitzGerald R.J., Cermeño M., Khalesi M., Kleekayai T., Amigo-Benavent M., 2020. Application of in silico approaches for the generation of milk protein-derived bioactive peptides. *J. Fun. Foods.* 64, 103636, <https://doi.org/10.1016/j.jff.2019.103636>
- Florence A.C.R., Silva R.C., Sousa A.L.P., Gioielli L.A., Oliveira M.N., 2009. The lipid profile of probiotic fermented milks organic and conventional. *Nutr. J. Braz. Soc. Food. Nutr.* 34, 223.
- Gabryszuk M., Sakowski T., Metera E., Kuczyńska B., Rembiałkowska E., 2013. Wpływ żywienia na zawartość składników bioaktywnych w mleku krów z gospodarstw ekologicznych. *Żywn. Nauk. Technol. J.* 20, 16–26.
- Gabryszuk M., Słoniewski K., Sakowski T., 2008. Macro- and microelements in milk and hair of cows from conventional vs. organic farms. *Anim. Sci. Pap. Rep.* 26(3), 199–209.
- Gapper L.W., David E.J., Copestake D.E.J., 2007. Analysis of bovine immunoglobulin G in milk, colostrum and dietary supplements: a review. *Anal. Bioanal. Chem.* 389, 93–109, <https://doi.org/10.1007/s00216-007-1391-z>
- Gaudin J.C., Rabesona H., Choiset Y., Yeretsian G., Chobert J.-M., Sakanyan V., Drouet M., Haertlé T., 2008. Assessment of the immunoglobulin E-mediated immune response to milk-specific proteins in allergic patients using microarrays. *Clin. Exp. Allergy.* 38, 686–693, <https://doi.org/10.1111/j.1365-2222.2008.02952.x>
- Gijssbers L., Ding E.L., Malik V.S., de Goede J., Geleijnse J.M., Soedamah-Muthu S.S., 2016. Consumption of dairy foods and diabetes incidence: a dose-response meta-analysis of observational studies. *Am. J. Clin. Nutr.* 103(4), 1111–1124, <https://doi.org/10.3945/ajcn.115.123216>
- Goebel A., Buhner S., Schedel R., 2008. Altered intestinal permeability in patients with primary fibromyalgia and in patients with complex regional pain syndrome. *Rheumatology* 47(8), 1223–1227, <https://doi.org/10.1093/rheumatology/ken140>
- Górska A., Ostrowska-Ligeża E., Wirkowska M., 2011.  $\beta$ -laktoglobulina – potencjalny nośnik witaminy D. *Bromat. Chem. Toksykol.* 44(3), 535–538.
- Górska-Warsewicz H., Rejman K., Laskowski W., Czacotko M., 2019. Milk and dairy products and their nutritional contribution to the average polish diet. *Nutrients* 11, 1771, <https://doi.org/10.3390/nu11081771>
- Granato D., Nunes D.S., Barba F.J., 2017. An integrated strategy between food chemistry, biology, nutrition, pharmacology, and statistics in the development of functional foods: A proposal. *Trends Food Sci. Technol.* 62, 13–22, <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2016.12.010>
- Guantario B., Giribaldi M., Devirgiliis C., Finamore A., Colombino E., Capucchio M.T., Evangelista R., Motta V., Zinno P., Cirrincione S., Antoniazzi S., Cavallarin L., Roselli M., 2020. A comprehensive evaluation of the impact of bovine milk containing different beta-casein profiles on gut health of ageing mice. *Nutrients* 12, 1–19, <https://doi.org/10.3390/nu12072147>
- Guha S., Sharma H., Deshwal G.K., Rao P.S., 2021. A comprehensive review on bioactive peptides derived from milk and milk products of minor dairy species. *Food Prod. Proces. Nutr.* 3, 2, <https://doi.org/10.1186/s43014-020-00045-7>
- Guilloteau P., Romé V., Delaby L., Mendy F., Roger L., Chayvialle J.A., 2010. Is caseinomacropptide from milk proteins, an inhibitor of gastric secretion? *Regul. Pept.* 159, 129–136, <https://doi.org/10.1016/j.peptides.2009.09.002>
- Guo H.Y., Pang K., Zhang X.Y., Zhao L., Chen S.W., Dong M.L., Ren F.Z., 2007. Composition, physicochemical properties, nitrogen fraction distribution, and amino acid profile of donkey milk. *J. Dairy Sci.* 90, 1635–1643, <https://doi.org/10.3168/jds.2006-600>
- Hanuš O., Samková E., Krížová L., Hasonová L., Kala R., 2018. Role of fatty acids in milk fat and the influence of selected factors on their variability – A review. *Molecules* 23, 1636, <https://doi.org/10.3390/molecules23071636>
- Haq M.R.U., Kapila R., Sharma R., Saliganti V., Kapila S. 2014. Comparative evaluation of cow  $\beta$ -casein variants (A1/A2) consumption on Th2-mediated inflammatory response in mouse gut. *Eur. J. Nutr.* 53(4), 1039–49, <https://doi.org/10.1007/s00394-013-0606-7>
- Haque Z.U., Bohoua G.L., Williams J.B., Mikel W.B., 2010. Influence of whey peptides on the surface activity of  $\kappa$ -casein and  $\beta$ -lactoglobulin A. *Int. J. Dairy Technol.* 63(2), 190–196, <https://doi.org/10.4236/fns.2015.612119>

- Haug A., Høstmark A.T., Harstad O.M., 2007. Bovine milk in human nutrition – a review. *Lipids Health Dis.* 6, 25, <https://doi.org/10.1186/1476-511X-6-25>
- Haug M., Laubach C., Burke M., Harzer G., 1987. Vitamin E in human milk from mothers of preterm and term infants. *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.* 6, 605–609.
- Havemose M.S., Weisbjerg M.R., Bredie W.L.P., Nielsen J.H., 2004. Influence of feeding different types of roughage on the oxidative stability of milk. *Int. Dairy J.* 14, 563–570, <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2003.11.005>
- Hegde N.G., 2019. Research on A1 and A2 milk: A1 milk is not a matter of health concern. Review Article. *Indian J. Anim Sci.* 89(7), 707–711.
- Hernández-Ledesma B., Dávalos A., Bartolomé B., Amigo L., 2005. Preparation of antioxidant enzymatic hydrolysates from alpha-lactalbumin and beta-lactoglobulin. Identification of active peptides by HPLC-MS/MS. *J. Agri. Food Chem.* 53, 588–593, <https://doi.org/10.1021/jf048626m>
- Ho S., Woodford K., Kukuljan S., Pal S., 2014. Comparative effects of A1 versus A2 beta-casein on gastrointestinal measures: a blinded randomised cross-over pilot study. *Eur. J. Clin. Nutr.* 68(9), 994–1000, <https://doi.org/10.1038/ejcn.2014.127>
- Hollox E., 2005. Evolutionary genetics: genetics of lactase persistence – fresh lessons in the history of milk drinking. *Eur. J. Hum. Genet.* 13(3), 267–269, <https://doi.org/10.1038/sj.ejhg.5201297>
- Hu Y., Meng X., Zhang F., Xiang Y., Wang J., 2021. The *in vitro* antiviral activity of lactoferrin against common human coronaviruses and SARS-CoV-2 is mediated by targeting the heparan sulfate co-receptor. *Emerg. Microbes Infect.* 10(1), 317–330, <https://doi.org/10.1080/22221751.2021.1888660>
- Hunter J.E., Zhang J., Kris-Etherton P.M., 2010. Cardiovascular disease risk of dietary stearic acid compared with trans, other saturated, and unsaturated fatty acids: a systematic review. *Am. J. Clin. Nutr.* 91, 46–63, <https://doi.org/10.3945/ajcn.2009.27661>
- Ishii K., Takamura N., Shinohara M., 2003. Long-term follow-up of chronic hepatitis C patients treated with oral lactoferrin for 12 months. *Hepatol. Res.* 25, 226–233, [https://doi.org/10.1016/s1386-6346\(02\)00279-6](https://doi.org/10.1016/s1386-6346(02)00279-6)
- Iwańczak F., 2002. Diety eliminacyjne w leczeniu alergii pokarmowej u niemowląt. *Nowa Pediatria* 3, 119–121.
- Jasińska M., Skryplonek K., 2013. Mleko klaczy, jego właściwości i wykorzystanie. *Prz. Hod.* 6, 22–24.
- Jenkins T.C., McGuire M.A., 2006. Major advances in nutrition: Impact on milk composition. *J. Dairy Sci.* 89, 1302–1310, [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(06\)72198-1](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(06)72198-1)
- Jianqin S., Leiming X., Lu X., Yelland G.W., Ni J., Clarke A.J., 2016. Effects of milk containing only A2 beta casein versus milk containing both A1 and A2 beta casein proteins on gastrointestinal physiology, symptoms of discomfort, and cognitive behavior of people with self-reported intolerance to traditional cows' milk. *Nutr. J.* 15, 1–16, <https://doi.org/10.1186/s12937-016-0147-z>
- Jimborean M., Țibulcă D., Rotar A.M., Pop C., Socaci S., 2015. Studies on functional yogurt with added inulin as prebiotic fiber. *Bull. Univ. Agric. Sci. Vet. Med. Cluj-Napoca, Food Sci. Technol.* 72(2), 285–286, <http://dx.doi.org/10.15835/buasvmcn-fst:11556>
- Kalač P., 2011. The effects of silage feeding on some sensory and health attributes of cow's milk: A review. *Food Chem.* 125, 307–317, <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.08.077>
- Kamiński S., Cicoelińska A., Kostyra E., 2007. Polymorphism of bovine beta-casein and its potential effect on human health. *J. Appl. Genet.* 48(3), 189–198, <https://doi.org/10.1007/BF03195213>
- Kapusta A., Kuczyńska B., Puppel K., 2018. Relationship between the degree of antioxidant protection and the level of malondialdehyde in high-performance Polish Holstein-Friesian cows in peak of lactation. *Plos One* 13(3), e0193512, <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0193512>
- Kawęcka A., Radkowska I., Sikora J., 2020. Concentrations of selected bioactive components in traditional cheeses made from goat's, cow's and sheep's milk. *J. Elem.* 25(2), 431–442. <https://doi.org/10.5601/jelem.2019.24.3.1907>
- Kell D.B., Heyden E.L., Pretorius E., 2020. The biology of lactoferrin, an iron-binding protein that can help defend against viruses and bacteria. *Frontiers Immunol.* 11, 1221, <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.01221>

- Khan I.T., Nadeem M., Imran M., Ullah R., Ajmal M., Jaspal M.H., 2019. Antioxidant properties of milk and dairy products: a comprehensive review of the current knowledge. *Lipids Health Dis.* 18(41), <https://doi.org/10.1186/s12944-019-0969-8>
- Kirchnerová K., Foltys V., Špička J., 2013. Impact of lactation stage on milk fat fatty acids profile in grazing dairy cows. *J. Microbiol., Biotechnol. Food Sci.* 2(1), 1164–1174.
- Konuspayeva G., Faye B., Loiseau G., 2009. The composition of camel milk: A meta-analysis of the literature data. *J. Food Compos. Anal.* 22, 95–101, <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2008.09.008>
- Kost N.V., Sokolov O.Yu., Kurasova O.B., Dmitriev A.D., Tarakanova J.N., Gabaeva M.V., Zolotarev Y.A., Dadayan A.K., Grachev S.A., Korneeva K.V., Mikheeva I.G., Zozulya A.Z., 2009.  $\beta$ -Casomorphins-7 in infants on different type of feeding and different levels of psychomotor development. *Peptides* 30, 1854–1860, <https://doi.org/10.1016/j.peptides.2009.06.025>
- Kowalewska-Piontas J., Bednarski W., 1999. Technologiczne oraz żywieniowe aspekty enzymatycznej hydrolizy laktozy. *Żywność* 4(21), 54–61.
- Król J., Brodziak A., 2012. Rola i znaczenie kwasów tłuszczowych mleka w profilaktyce chorób cywilizacyjnych. *Żyw. Człow. Metab.* 39, 211–220.
- Król J., Brodziak A., 2015. Białka mleka o właściwościach antybakteryjnych. *Probl. Hig. Epidemiol.* 96(2), 399–405.
- Król J., Brodziak A., Litwińczuk A., 2011a. Podstawowy skład chemiczny i zawartość wybranych białek serwatkowych w mleku krów różnych ras i w serwatce podpuszczkowej. *Żywn. Nauk. Technol. J.* 4(77), 74–83, <https://doi.org/10.15193/zntj/2011/77/074-083>
- Król J., Brodziak A., Litwińczuk Z., Szwałkowska M., 2011b. Wykorzystanie białek serwatkowych w promocji zdrowia. *Żyw. Człow. Metab.* 38(1), 36–45.
- Król J., Brodziak A., Wolanciuk A., Wójcik M., 2010a. Zawartość składników mineralnych w mleku krów simentalskich w zależności od systemu żywienia. *Roczn. Nauk. PTZ* 6(4), 321–328.
- Król J., Brodziak A., Zaborska A., Litwińczuk Z., 2017. Comparison of whey proteins and lipophilic vitamins between four cow breeds maintained in intensive production system. *Mlječarstvo*, 67, 17–24, <https://doi.org/10.15567/mljekarstvo.2017.0102>
- Król J., Kędzierska-Matysek M., Brodziak A., Zaborska A., Litwińczuk A., 2018. The effect of selected factors on yield and protein and mineral retention in traditionally produced tvarog. *J. Elem.* 23(3), 959–969, <https://doi.org/10.5601/jelem.2017.22.4.1433>
- Król J., Litwińczuk Z., Brodziak A., Sawicka-Zugaj W., 2010b. Bioactive protein content in milk from local breeds of cows included in the genetic resources conservation programme. *Ann. Anim. Sci.* 10(3), 213–221.
- Król J., Wawryniuk A., Brodziak A., Barłowska J., Kuczyńska B., 2020. The effect of selected factors on the content of fat-soluble vitamins and macro-elements in raw milk from Holstein-Friesian and Simmental cows and acid curd cheese (tvarog). *Animals* 10(10), Article no. 1800, <https://doi.org/10.3390/ani10101800>
- Kuczyńska B., Nałęcz-Tarwacka T., Puppel K., 2013. Bioaktywne składniki jako wyznaczniki jakości prozdrowotnej mleka. *Med. Rodz.* 1, 11–18.
- Kuczyńska B., Puppel K., Metera E., Gotezbiewski M., Sakowski T., Słoniewski K., 2012. Differences in whey proteins content between cow's milk collected in late pasture and early indoor feeding season from conventional and organic farms in Poland. *J. Sci. Food Agric.* 92, 2899–2904, <https://doi.org/10.1002/jsfa.5663>
- Kuczyńska B., 2011. Składniki bioaktywne i parametry technologiczne mleka produkowanego w gospodarstwach ekologicznych i konwencjonalnych. *Rozpr. Nauk. i Monogr. Wyd. SGGW, Warszawa*, 1–120.
- Kumar S., Dahiya S.P., Kumar S., Magotra A., 2017. Type of milk (A1/A2) and human health attributes : A review. *IJHW* 8, 1268–1270.
- Kuńczyński R., 2012. Wpływ olejów rybnych na profil kwasów tłuszczowych w mleku, parametry biochemiczne krwi oraz wskaźniki produkcyjne krów mlecznych. *Wyd. UP we Wrocławiu*.
- Lee N.K., Jeewanthi R.K.C., Park E.H., Paik H.D., 2016. Physicochemical and antioxidant properties of Cheddar-type cheese fortified with *Inula britannica* extract. *J. Dairy Sci.* 99, 83–88, <http://dx.doi.org/10.3168/jds.2015-9935>

- Leiber F., Kreuzer M., Nigg D., Wettstein H.R., Scheeder M.R.L., 2005. A study on the causes for the elevated n-3 fatty acids in cows' milk of alpine origin. *Lipids* 40, 191–202, <https://doi.org/10.1007/s11745-005-1375-3>
- Limsawat P., Pruksasri S., 2010. Separation of lactose from milk by ultrafiltration. *As. J. Food Ag-Ind.* 3(02), 236–243.
- Litwińczuk Z., Barłowska J., Chabuz W., Brodziak A., 2012. Nutritional value and technological suitability of milk from cows of three Polish breeds included in the genetic resources conservation programme. *Ann. Anim. Sci.* 12(3), 423–432, <https://doi.org/10.2478/v10220-012-0036-0>
- Litwińczuk Z., Koperska N., Chabuz W., Kędzińska-Matyssek M., 2018. Podstawowy skład chemiczny i zawartość składników mineralnych w mleku krów różnych ras użytkowanych w gospodarstwach ekologicznych i konwencjonalnych z intensywnym i tradycyjnym systemem żywienia. *Med. Weter.* 74(5), 309–313. <https://doi.org/dx.doi.org/10.21521/mw.6022>
- Lock A.L., Garnsworthy P.C., 2003. Seasonal variation in milk conjugated linoleic acid and 9-desaturase activity in dairy cows. *Livest. Prod. Sci.* 79, 47–59, [https://doi.org/10.1016/S0301-6226\(02\)00118-5](https://doi.org/10.1016/S0301-6226(02)00118-5)
- Lomer M.C., Parkes G.C., Sanderson J.D., 2008. Review article: lactose intolerance in clinical practice-myths and realities. *Aliment. Pharm. Ther.* 27(2), 93–103, <https://doi.org/10.1111/j.1365-2036.2007.03557.x>
- Mackie T.R., Bryant A.M., Petch S.F., Hooper R.J., Auld M.J., 1999. Variation in the composition of milk protein from pasture-fed dairy cows in late lactation and the effect of grain and silage supplementation. *New Zealand J. Agric. Res.* 42, 147–154, <https://doi.org/10.1080/00288233.1999.9513364>
- Madureira A.R., Pereira C.I., Gomes A.M., Pintado M.E., Malcata F.X., 2007. Bovine whey proteins – overview on their main biological properties. *Food Res. Intern.* 40, 1197–1211, <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2007.07.005>
- Małaczewska J., Rotkiewicz Z., 2007. Laktoferyna – białko multipotencjalne. *Med. Weter.* 63(2), 136–139.
- Marchiondo K., 2009. Lactose intolerance: a nursing perspective. *Medsurg. Nurs.* 18(1), 9–15.
- Marcone S., Belton O., Fitzgerald D.J., 2017. Milk-derived bioactive peptides and their health promoting effects: A potential role in atherosclerosis. *British J. Clin. Pharmacol.* 83, 152–162, <https://doi.org/10.1111/bcp.13002>
- Marszałkowska J., Gutowska J., Samoliński B., 2007. Częstość występowania dodatnich testów skórnych na alergeny pokarmowe w specjalistycznej poradni alergologicznej. *Alerg. Astma Immun.* 12(3), 160–164.
- Mills S., Ross R.P., Hill C., Fitzgerald G.F., Stanton C., 2011. Milk intelligence: Mining milk for bioactive substances associated with human health. *Int. Dairy J.* 21, 377–40, <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2010.12.011>
- Mitani T., Kobayashi K., Ueda K., Kendo S., 2015. Discrimination of „grazing milk” using milk fatty acid profile in the grassland dairy area in Hokkaido. *Anim. Sci. Nutr.* 2015, 87, 233–241, <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2010.12.011>
- Moran C.A., Morlacchini M., Keegan J.D., Warren H., Fusconi G., 2019. Dietary supplementation of dairy cows with a docosahexaenoic acid-rich thraustochytrid, *Aurantiochytrium limacinum*: effects on milk quality, fatty acid composition and cheese making properties. *J. Anim. Feed Sci.* 28, 3–14, <https://doi.org/10.22358/jafs/105105/2019>
- Najgebauer-Lejko D., Grega T., Tabaszewska M. (2014). Yoghurts with addition of selected vegetables: acidity, antioxidant properties and sensory quality. *Acta Sci. Pol. Technol. Aliment.* 13(1), 35–42.
- Najgebauer-Lejko D., Grega T., Tabaszewska M., 2014. Yoghurts with addition of selected vegetables: acidity, antioxidant properties and sensory quality. *Acta Sci. Pol. Technol. Aliment.* 13(91), 35–42.
- Novalin S., Neuhaus W., Kulbe K.D., 2005. A new innovative process to produce lactose-reduced skim milk. *J. Biotechnol.* 119, 212–218, <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2005.03.018>
- Nowicka-Jasztal A., Bryl E., 2016. Nadwrażliwość na pokarmy – choroba XXI wieku? *Forum Med. Rodz.* 10(1), 1–9.

- O'Callaghan T.F., 2019. The benefits of pasture-based dairy. *Irish Food* 1, 34–35.
- Pal S., Woodford K., Kukuljan S., Ho S., 2015. Milk intolerance, beta-casein and lactose. *Nutrients* 7(9), 7285–7297, <https://doi.org/10.3390/nu7095339>
- Pan Y., Shiell B., Wan J., Coventry M.J., Michalski W.P., Lee A., Roginski H., 2007. The molecular characterization and antimicrobial properties of amidated bovine  $\alpha$ -lactoglobulin. *Int. Dairy J.* 17, 1450–1459, <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2007.04.006>
- Park Y.W., Haenlein G.F.W., 2006. *Handbook of milk of non-bovine mammals*. Victoria, Australia: Blackwell Publishing.
- Park Y.W., Nam M.S., 2015. Bioactive peptides in milk and dairy products: A review. *Korean J. Food Sci. Anim. Res.* 35(6), 831–840, <https://doi.org/10.5851/kosfa.2015.35.6.831>
- Pastuszka R., Barłowska J., Litwińczuk Z., 2016. Alergenność mleka różnych gatunków zwierząt w odniesieniu do kobiecego. *Post Hig. Med. Dosw.* 70, 1451–1459.
- Paszczyk B., Łuczyńska J., 2018. Changes in the content of CLA and other trans isomers in the Kormoran cheese during six weeks of ripening. *Pol. J. Natur. Sci.* 33(4), 579–589.
- Pawłowicz M.B., Cudowska B., Lebensztejn D.M., 2015. Preparaty mleka modyfikowanego i mlekozastępcze w żywieniu dzieci. *Stand. Med. Pediatr.* 12, 551–558.
- PFHBiPM, 2020. Mleko A2 – Jak poznać potencjał swojego stada, <https://pfhb.pl>
- Phelan M., Aherne A., Fitzgerald R. J., O'Brien M., 2009. Casein-derived bioactive peptides: Biological effects, industrial uses, safety aspects and regulatory status. *Int. Dairy J.* 19, 643–654, <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2009.06.001>
- Pietrzak-Fiećko R., Staniewska K., Staniewski B., 2017. Fatty acid profile of milk fat in the local dairy products from North-Eastern Poland. *Pol. J. Natur. Sci.* 32(1), 143–151.
- Polidori P., Vincenzetti S., 2012. Protein profile characterization of donkey milk. [W:] W.L. Hurley (red.), *Milk Protein*. InTech Open, London, 215–232, <https://doi.org/10.5772/45982>
- Póti P., Pajor F., Bodnár Á., Penksza K., Köles P., 2015. Effect of micro-alga supplementation on goat and cow milk fatty acid composition. *Chil. J. Agric. Res.* 75(2), 259–263, <http://dx.doi.org/10.4067/S0718-58392015000200017>
- Priyadarshini P., Mishra C., Mishra B., Swai, K., Rout M., Mishra, S. P., 2018. Impact of milk protein on human health: A1 verses A2. *IJCS*, 6(1), 531–535.
- Puppel K., Sakowski T., Kuczyńska B., Grodkowski G., Gołębiowski M., Barszczewski J., Wróbel B., Budziński A., Kapusta A., Balcerak M., 2017. Degrees of antioxidant protection: A 2-year study of the bioactive properties of organic milk in Poland. *J. Food Sci.* 82, 525–528, <https://doi.org/10.1111/1750-3841.13594>
- Quantec, 2021, <https://www.quantec.co.nz/blog/post/63272/could-cows-milk-help-in-the-fight-against-covid-19/>
- Radkowska I., 2020. Identyfikacja i właściwości prozdrowotne mleka zawierającego  $\beta$ -kazeinę typu A2. *Rocz. Nauk. Zoot.* 47(2), 165–177.
- Reklewska B., Oprządek A., Reklewski Z., Panicke L., Kuczyńska B., Oprządek J., 2002. Alternative for modifying the fatty acid composition and decreasing the cholesterol level in the milk of cows. *Livest. Prod. Sci.* 76, 235–243, [http://dx.doi.org/10.1016/S0301-6226\(02\)00123-9](http://dx.doi.org/10.1016/S0301-6226(02)00123-9)
- Rey-Crespo R., Miranda M., López-Alonso M., 2013. Essential trace and toxic element concentrations in organic and conventional milk in NW Spain. *Food Chem. Toxicol.* 55, 513–518, <http://dx.doi.org/10.1016/j.fct.2013.01.040>
- Rozporządzenie Komisji (UE) nr 432/2012 z dnia 16 maja 2012 r. ustanawiające wykaz dopuszczonych oświadczeń zdrowotnych dotyczących żywności, innych niż oświadczenia odnoszące się do zmniejszenia ryzyka choroby oraz rozwoju i zdrowia dzieci (Dz. Urz. UE 2012 L 136/1).
- Ruiz J.P.A., Alonzo M.W., Pertíñez M.D., 2016. Conjugated linoleic acid of dairy foods is affected by cows' feeding system and processing of milk. *Sci. Agric.* 73(2), 103–108, <https://doi.org/10.1590/0103-9016-2015-0051>
- Ruprichová L., Králová M., Borkovcová I., Vorlová L., Bedáňová I., 2014. Determination of whey proteins in different types of milk. *Acta Vet. Brno.* 83, 67–72, <http://dx.doi.org/10.2754/avb201483010067>

- Rutkowska J., Sinkiewicz I., Adamska A., 2012. Profil kwasów tłuszczowych mleka pochodzącego od krów żywionych w systemie TMR. *Żywn. Nauk. Technol. J.* 5(84), 135–144.
- Rutkowska E., Tambor K., Rutkowska J., Stołyhwo A., 2015. Charakterystyka prozdrowotnych kwasów tłuszczowych tłuszczu mlecznego. *Probl. Hig. Epidemiol.* 96(2), 377–386.
- Rychlik U., Marszałek A., 2013. Nietolerancja laktozy – współczesny stan wiedzy. *Diagn. Lab.* 49(1), 71–73.
- Sakkas L., Moutafi A., Moschopoulou E., Moatsou G., 2014. Assessment of heat treatment of various types of milk. *Food Chem.* 159, 293–301, <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.03.020>
- Sakowski T., Kuczyńska B., Puppel K., Metera E., Słoniewski K., Barszczewski J., 2012. Relationships between physiological indicators in blood, and their yield, as well as chemical composition of milk obtained from organic dairy cows. *J. Sci. Food. Agric.* 92, 2905–2912, <https://doi.org/10.1002/jsfa.5900>
- Salimei E., Fantuz F., Coppola R., Chiofalo B., Polidori P., Varisco G., 2004. Composition and characteristics of ass's milk. *Anim. Res.* 53, 67–78, <https://doi.org/10.4081/ijas.2005.2s.430>
- Santin Junior I.A., Silva K.C.C., Cucco D.C., 2019. Milk fatty acids profile and the impact on human health. *J. Dairy Vet. Sci.* 10(1), 555779, <https://doi.org/10.19080/JDVS.2019.10.555779>
- Schwendel B.H., Wester T.J., Morel P.C.H., Deadman C., Shadbolt N.M., Otter D.E., 2015. Invited review: organic and conventionally produced milk-an evaluation of factors influencing milk composition. *J. Dairy Sci.* 98, 721–746, <https://doi.org/10.3168/jds.2014-8389>
- Seifu E., Buys E.M., Donkin E.F., 2005. Significance of the lactoperoxidase system in the dairy industry and its potential applications: a review. *Trends in Food Sci. Technol.* 16(4), 137–154, <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2004.11.002>
- Shamsia S.M., 2009. Nutritional and therapeutic properties of camel and human milks. *Int. J. Genet. Mol. Biol.* 1, 52–58.
- Sicherer S.H., 2001. Clinical implications of cross-reactive food allergens. *J. Allergy Clin. Immunol.* 108, 881–890, <https://doi.org/10.1067/mai.2001.118515>
- Sicherer S.H., 2011. Epidemiology of food allergy. *J. Allergy Clin. Immunol.* 127, 594–602, <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2010.11.044>
- Sicherer S.H., Sampson H.A., 2014. Food allergy: Epidemiology, pathogenesis, diagnosis, and treatment. *J. Allergy Clin. Immunol.* 133, 291–307, <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2013.11.020>
- Skypala I.J., Bull S.C., Deegan K., Gruffydd-Jones K., Holmes S., Small I., Emery P., Durham S., 2010. Prevalence of pollen-related oral allergy syndrome (OAS) in a UK population. *J. Allergy Clin. Immunol.* 125(2), AB218.
- Smithers G.W., 2008. Whey and whey proteins – From 'gutter-to-gold'. *Int. Dairy J.* 18(7), 695–704, <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2008.03.008>
- Stergiadis S., Leifert C., Seal C.J., Eyre M.D., Steinshamn H., Butler G., 2014. Improving the fatty acid profile of winter milk from housed cows with contrasting feeding regimes by oilseed supplementation. *Food Chem.* 164, 293–300, <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.05.021>
- Strzałkowska N., Jasińska K., Józwick A., 2018. Physico-chemical properties of lactose, reasons for and effects of its intolerance in humans – a review. *Anim. Sci. Pap. Rep.* 36(1), 21–31.
- Sun Z., Zhang Z., Wang X., Cade R., Elmir Z., Fregly M., 2003. Relation of  $\beta$ -casomorphin to apnea in sudden infant death syndrome. *Peptides* 24, 937–943, [https://doi.org/10.1016/s0196-9781\(03\)00156-6](https://doi.org/10.1016/s0196-9781(03)00156-6)
- Szszunowicz I., 2014. Wpływ peptydów uwalnianych z białek mleka krowiego na układ krwionośny. *Innow. Mlecz.* 2, 4–12.
- Szulec T., Barłowska J., 2020. Tajemnice mleka. Wyd. UP we Wrocławiu.
- Szwajkowska M., Wolanciuk A., Barłowska J., Król J., Litwińczuk Z., 2011. Bovine milk proteins as the source of bioactive peptides influencing the consumers' immune system. *Anim. Sci. Pap. Rep.* 29(4), 269–280.
- Taormina V.M., Unger A.L., Schiksnis M.R., Tores-Gonzales M., Kraft J., 2020. Branched-chain fatty acids – An underexplored class of dairy-derived fatty acids. *Nutr.* 12, 2875, <https://doi.org/10.3390/nu12092875>
- Teter A., Barłowska J., Florek M., Kędzińska-Matyssek M., Król J., Brodziak A., Litwińczuk Z., 2019. Coagulation capacity of milk of local polish and Holstein-Friesian cattle breeds. *Anim. Sci. Pap.* 37, 259–268.

- Timón M.L., Parra V., Otte J., Broncano J.M., Petró M.J., 2014. Identification of radical scavenging peptides (< 3 kDa) from Burgos-type cheese. *LWT – Food Sci. Technol.* 57, 359–365, <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2014.01.020>
- Toledo P., Andren A., Bjorck L., 2002. Composition of raw milk from sustainable production systems. *Int. Dairy J.* 12, 75–80.
- Truswell A.S., 2005. The A2 milk case: A critical review. *Eur. J. Clin. Nutr.* 59, 623–631, <https://doi.org/10.1038/sj.ejcn.1602104>
- Uniacke-Lowe T., 2011. Studies on equine milk and comparative studies on equine and bovine milk systems. PhD Thesis, University College Cork, Ireland, 535.
- Vandenplas Y., 2015. Lactose intolerance. Review article. *Asia Pac. J. Clin. Nutr.* 24(1), 9–13.
- Vanitcharoen S., Tangsuphoom N., Suthisansanee U., Santivarangkana Ch., 2018. Effect of protein hydrolysis on physical properties and antioxidant activities of cow's milk. *J. Food Sci. Agri. Technol.* 4, 105–110.
- Vargas-Bello-Pérez E., Márquez-Hernández R.I., Hernández-Castellano L.E., 2019. Bioactive peptides from milk: animal determinants and their implications in human health. *J. Dairy Res.* 86, 136–144, <https://doi.org/10.1017/S0022029919000384>
- Vincenzetti S., Polidori P., Fantuz F., Mariani P.L., Cammertoni N., Vita A., Polidori F., 2005. Donkey's milk caseins characterization. *Ital. J. Anim. Sci.* 4, 427–429, <http://dx.doi.org/10.4081/ijas.2009.s2.677>
- Vyas H.K., Tong P. S., 2003. Process for calcium retention during skim milk ultrafiltration. *J. Dairy Sci.* 86, 2761–2766, [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(03\)73872-7](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(03)73872-7)
- Wal J.M., 2001. Structure and function of milk allergens. *Allergy* 56, 35–38.
- Walther B., Wechsler D., Schlegel P., Haldimann M., 2018. Iodine in Swiss milk depending on production (conventional versus organic) and on processing (raw versus UHT) and the contribution of milk to the human iodine supply. *J. Trac. Element. Med. Bio.* 46, 138–143.
- Wang T., Lee H.G., 2015. Advances in research on cis-9, trans-11 conjugated linoleic acid: a major functional conjugated linoleic acid isomer. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 55, 720–731, <https://doi.org/10.1080/10408398.2012.674071>
- Wąsik M., Nazimek K., Bryniarski K., 2018. Reakcje alergiczne na mleko krowie: patomechanizm, strategie diagnostyczne i terapeutyczne, możliwości indukcji tolerancji pokarmowej. *Postepy Hig. Med. Dosw.* 72, 339–348, <https://doi.org/10.5604/01.3001.0011.8254>
- Weber D., Grune T., 2012. The contribution of  $\beta$ -carotene to vitamin A supply of humans. *Molec. Nutr. Food Res.* 56, 51–58, <https://doi.org/10.1002/mnfr.201100230>
- Witkiewicz Z., Wardencki W., 2018. *Chromatografia gazowa. Teoria i praktyka*. Wyd. Nauk. PWN, Warszawa.
- Witkiewicz Z., Wardencki W., Malinowska I., 2019. *Chromatografia cieczowa. Teoria i praktyka*. Wyd. Nauk. PWN, Warszawa.
- Woodford, K., 2007. A2 milk, farmer decisions, and risk management. *Proc. 16th Int. Farm Manag. Congr. Peer Rev. Pap.* 641–648.
- Wróblewska B., Szymkiewicz A., Jędrzychowski L., 2007. Wpływ procesów technologicznych na zmiany alergienności żywności. *Żywn. Nauk. Technol. J.* 6(55), 7–19.
- Xu Q.B., Zhang Y.D., Zheng N., Wang Q., Li S., Zhao S.G., Wen F., Meng L., Wang J.Q., 2020. Decrease of lipid profiles in cow milk by ultra-high-temperature treatment but not by pasteurization. *J. Dairy Sci.* 103(2), 1900–1907, <https://doi.org/10.3168/jds.2019-17329>.
- Yadav S., Yadav N.D.S., Gheware A., Kulshreshtha A., Sharma P., Singh V.P., 2020. Oral feeding of cow milk containing A1 variant of  $\beta$  casein induces pulmonary inflammation in male balb/c mice. *Sci. Rep.* 10, 8053, <https://doi.org/10.1038/s41598-020-64997-z>
- Yilmaz-Ersan L., Ozcan T., Akpinar-Bayazit A., Sahin S., 2018. Comparison of antioxidant capacity of cow and ewe milk kefir. *J. Dairy Sci.* 101, 3788–3798, <https://doi.org/10.3168/jds.2017-13871>
- Zaborska A., Król J., Brodziak A., 2014. Witamina D – rola i znaczenie dla człowieka. *Przem. Spoż.* 68(10), 34–38.
- Zaborska A., Król J., Brodziak A., 2015a. Witamina A – funkcje i znaczenie dla człowieka. *Przem. Spoż.* 69(7), 36–38.



- Zaborska A., Król J., Brodziak A., 2015b. Witamina E – właściwości i znaczenie dla człowieka. *Przem. Spoż.* 69(12), 28–31.
- Zagorska J., 2007. The evaluation of organic milk quality. Summary of doctoral thesis. Latvia University of Agriculture: Latvia,  
[http://www3.acadlib.lv/greydoc/zagorskas\\_disertacija/zagorska\\_ang.doc](http://www3.acadlib.lv/greydoc/zagorskas_disertacija/zagorska_ang.doc)
- Zalega J., Szostak-Węgierek D., 2013. Żywnienie w profilaktyce nowotworów. Cz. II. Składniki mineralne, witaminy, wielonienasycone kwasy tłuszczowe, probiotyki, prebiotyki. *Probl. Hig. Epidemiol.* 94(1), 50–58.
- Zaręba D., Trebnió E., Ziarno M., 2012. Składniki mineralne mleka i jego przetworów. *Przem. Spoż.* 4, 30–34.
- Zerva A., Limnaios A., Kritikou A.S., Thomaidis N.S., Taoukis P., Topakas E., 2021. A novel thermophile  $\beta$ -galactosidase from *Thermothielavioides terrestris* producing galactooligosaccharides from acid whey. *New Biotechnol.* 63, 45–53,  
<https://doi.org/10.1016/j.nbt.2021.03.002>
- Zimecki M., Artym J., 2005. Właściwości terapeutyczne białek i peptydów z siary i mleka. *Post. Hig. Med. Dosw.* 59, 309–323.
- Żulewska J., 2013. Produkty mleczne nośnikami składników prozdrowotnych. *Przem. Spoż.* 67(4), 14–18.



## ROZDZIAŁ 2

Piotr Domaradzki, Piotr Stanek, Paweł Żółkiewski, Katarzyna Zdrzałek, Mariusz Florek,  
Marek Kowalczyk, Piotr Skałeczki, Agnieszka Kaliniak-Dziura, Anna Teter

# Żywieniowe metody modyfikowania wartości odżywczej i cech sensorycznych mięsa wołowego – zawartość tłuszczu i profil kwasów tłuszczowych

## Wstęp

W opinii konsumentkiej jakość wołowiny określają liczne cechy, oceniane najpierw w momencie zakupu, a następnie finalnej konsumpcji. Początkowo nabywcy zwracają przede wszystkim uwagę na barwę, marmurkowatość, konsystencję i zapach surowca. Z kolei po obróbce termicznej najważniejszymi wyróżnikami są kruchość, smakowitość i soczystość mięsa, a niezadowolający poziom wymienionych parametrów (zwłaszcza kruchości) może być powodem braku decyzji o powtórnym zakupie takiego mięsa [Miller i in. 2001, Maltin i in. 2003]. Współcześni konsumenci są również coraz bardziej świadomi występujących zależności między dietą, zdrowiem i dobrym samopoczuciem a wartością odżywczą żywności i sposobem jej wytwarzania. Coraz szersza wiedza na temat tych zależności sprawia, że aktualnie dla nabywców są to najważniejsze aspekty jakościowe żywności, dlatego też wybierają oni żywność bezpieczną oraz zawierającą bioaktywne składniki, które odgrywają istotną rolę w utrzymaniu zdrowia i prewencji chorób [Hocquette i in. 2010, Verbeke i in. 2010].

Z jednej strony wołowina uważana jest za bardzo odżywczy i wartościowy składnik zbilansowanej diety człowieka z uwagi na wysoką zawartość białka o dużej wartości biologicznej. Jest źródłem witamin z grupy B (zwłaszcza witaminy B<sub>12</sub>) oraz składników mineralnych (głównie żelaza i cynku o wysokiej biodostępności oraz manganu). Z drugiej strony, podobnie jak inne gatunki mięsa czerwonego, często postrzegana jest negatywnie jako źródło tłuszczu zwierzęcego, zawierającego niekorzystne dla zdrowia nasycone kwasy tłuszczowe i cholesterol, które przyczyniają się do rozwoju szeregu tzw. chorób cywiliza-

cyjnych. Choć w ostatnich latach coraz częściej pojawiają się doniesienia o braku związku między konsumpcją mięsa czerwonego [Micha i in. 2010] czy nasyconych kwasów tłuszczowych [Chowdhury i in. 2014] a wyższą zapadalnością na choroby układu krążenia, cukrzycę typu 2 czy nowotwory jelita grubego, to instytucje zajmujące się problematyką żywienia nadal wskazują na takowe ryzyko, rekomendując ograniczenie spożywania mięsa czerwonego i jego przetworów do 70 g dziennie lub 500 g (750 g przed obróbką) tygodniowo [Public Health England 2018, NIZP-PZH 2020]. W zaleceniach często nie wskazuje się na różnice w zagrożeniach zdrowotnych pomiędzy mięsem kulinarnym a przetworami mięsnymi, do produkcji których używa się wielu substancji dodatkowych (np. azotanów, fosforanów, chlorku sodu), a także stosuje się zbyt wysoką temperaturę podczas obróbki termicznej. Ponadto smażenie czy wędzenie jako dominujące procesy przetwórcze zwiększają ryzyko rozwoju chorób dietozależnych [Micha i in. 2010, Boada i in. 2016]. Brak jest przekonujących dowodów, aby chude mięso czerwone (< 5% tkanki tłuszczowej) spożywane w umiarkowanych ilościach (do 180 g/dzień) jako element urozmaiconej i zbilansowanej diety negatywnie wpływało na zdrowie człowieka. Wręcz przeciwnie, wskazuje się raczej, że może korzystnie oddziaływać na funkcjonowanie organizmu [McAfee i in. 2010].

Kształtowanie jakości wołowiny rozpoczyna się już na etapie chowu zwierząt, a na końcową jej jakość wpływa wiele czynników przyżyciowych i poubojowych. Do czynników przyżyciowych należą przede wszystkim uwarunkowania genetyczne (rasa, płęć) i pozagenetyczne (wiek, system chowu, żywienie i obrót przedubojowy). Do czynników poubojowych należy natomiast postępowanie z tuszami i mięsem po uboju, w tym wychładzanie, rozbiór, pakowanie, przechowywanie i dojrzewanie [Domaradzki i in. 2016].

Modyfikowanie jakości tusz i wartości odżywczej mięsa wołowego związane jest głównie ze stosowaniem różnych pasz oraz dodatków paszowych. Obejmuje ono przede wszystkim zwiększenie udziału tkanki mięśniowej w tuszy przy jednoczesnym zmniejszeniu jej otluszczenia, zmiany walorów odżywczych, a także jakości sensorycznej, zawartości mikroelementów, witamin, substancji biologicznie czynnych, co może oddziaływać prozdrowotnie na organizm człowieka [Olmedilla-Alonso i in. 2013]. Dobierając odpowiednie pasze objętościowe (np. kiszonkę z traw czy zielonkę pastwiskową) oraz pasze treściwe i dodatki tłuszczowe (oleje czy nasiona roślin oleistych), można uzyskać pożądaną modyfikację nie tylko składu kwasów tłuszczowych w mięsie wołowym, ale również wpływać na zawartość związków bioaktywnych, m.in. witamin czy składników mineralnych [Kinal 2004]. Niemniej jednak, stosując żywieniowe strategie mające na celu zwiększenie wartości odżywczej wołowiny, należy pamiętać o innych, niezwykle istotnych z punktu widzenia konsumenckiego cechach jakościowych mięsa, tj. barwie, smakowości czy kruchości [Webb 2006]. W tabeli 1 przedstawiono wpływ żywienia na najważniejsze cechy jakościowe mięsa wołowego.

Tabela 1. Wpływ żywienia na wyróżniki jakościowe mięsa wołowego [Webb 2006]

Wyszczególnienie		Stopień wpływu
Chuda tkanka mięśniowa	zawartość białka	znikomy
	profil aminokwasowy	nieznaczny do małego
	barwa mięsa	znaczący
Tłuszcz	zawartość tłuszczu	znaczący
	profil kwasów tłuszczowych	zwykle istotny
	proporcja kwasów tłuszczowych n-6/n-3	zwykle istotny
	zawartość CLA	zwykle istotny
	barwa tłuszczu	znaczący
Witaminy	witaminy rozpuszczalne w tłuszczach	znaczący
	witaminy rozpuszczalne w wodzie	znikomy
Składniki mineralne		zwykle istotny, ale tylko w przypadku niektórych składników mineralnych
Właściwości sensoryczne	zapach	zwykle istotny
	soczystość	zwykle istotny
	kruchość	w dużej mierze zróżnicowany
	smak	zwykle istotny
	ogólna akceptowalność	zwykle istotny

### Wpływ żywienia bydła na wartość odżywczą mięsa

Poprawę walorów dietetycznych mięsa wołowego można uzyskać, stosując odpowiednie strategie żywieniowe związane z systemem opasu bydła oraz właściwym zbilansowaniem dawek pokarmowych. Polegają one m.in. na zmniejszeniu intensywności żywienia, zwiększeniu udziału pasz objętościowych (zielonka pastwiskowa, kiszonka z traw łąkowych i siano) przy jednoczesnym zmniejszeniu udziału pasz treściwych, wypasie na pastwisku, dodatku do dawek pokarmowych nasion roślin oleistych (np. rzepaku czy lnu), olejów roślinnych oraz rybnych czy alg morskich. Celem większości modyfikacji żywieniowych jest zwiększenie udziału chudej tkanki mięśniowej w tuszach oraz zmiana składu

lipidów mięsa wołowego polegająca na zmniejszeniu zawartości nasyconych kwasów tłuszczowych (SFA), zwiększeniu zawartości wielonienasyconych kwasów tłuszczowych (PUFA), zwłaszcza n-3, kwasu CLA cis-9 trans-11, jak również poprawa wskaźników jakości żywieniowej lipidów, w tym zwiększenie proporcji PUFA/SFA ( $P/S > 0,4$ ) oraz obniżenie proporcji n-6/n-3 ( $< 5,0$ ) [Scolan i in. 2006]. W tabeli 2 przedstawiono potencjalny wpływ systemu żywienia (pastwiskowy vs. intensywny oparty na paszach treściwych) na zawartość składników bioaktywnych w mięsie wołowym.

Tabela 2. Najważniejsze różnice w wartości odżywczej mięsa wołowego pozyskanego od bydła żywnego paszami treściwymi oraz zieloną pastwiskową

Składniki odżywcze	Znaczenie składnika/proporcji dla zdrowia człowieka	System żywienia i udział poszczególnych składników odżywczych	
		pastwiskowy	intensywny
Kwasy tłuszczowe n-3 <sup>A</sup>	+++	↑↑↑	↓↓↓
Kwasy tłuszczowe n-6 <sup>B</sup>	+/-	↓↓	↑↑↑
Proporcja n-6/n-3 <sup>B</sup>	+++	↓↓↓	↑↑↑
Długołańcuchowe kwasy tłuszczowe (LC-PUFA) <sup>A</sup>	+++	↑↑	↓↓↓
Zawartość tłuszczu <sup>B</sup>	--/+	↓↓	↑↑
Kwasy tłuszczowe nasycone (SFA) <sup>B</sup>	---	↓	↑↑
Proporcja P/S <sup>A</sup>	+++	↑↑↑	↓↓↓
CLA <sup>A</sup>	+++	↑	↓/↑
Witamina E <sup>A</sup>	+++	↑↑↑	↓↓
Witamina C <sup>A</sup>	+++	↑↑	↓
β-karoten <sup>A</sup>	+++	↑↑↑	↓↓
Zawartość białka <sup>A</sup>	+++	↑	↓/↑

Z punktu widzenia żywieniowego pożądana jest: <sup>A</sup> wysoka zawartość składnika/wartość proporcji; <sup>B</sup> niska zawartość składnika/wartość proporcji; pozytywne (+), negatywne (-) lub niejednoznaczne (+/-) znaczenie w żywieniu człowieka; wzrost (↑) lub spadek (↓) zawartości/udziału składnika; ↓/↑ – niejednoznaczny wpływ; liczba ↑ lub ↓ wskazuje na siłę wpływu systemu żywienia na zawartość składnika/wartość proporcji.

## Profil kwasów tłuszczowych mięsa cielęcego i wołowego

Powszechnie uznaje się, że to czynniki żywieniowe w odróżnieniu od genetycznych mają decydujący wpływ na skład lipidów mięśniowych [De Smet i in. 2004]. W przypadku bydła rzeźnego intensywnie prowadzony opas oparty na paszach treściwych (głównie ziarnach zbóż), mający na celu uzyskanie dużych przyrostów dobowych w jak najkrótszym czasie, prowadzi do silniejszego otluszczenia tuszy i relatywnie dużej zawartości tłuszczu śródmięśniowego. Z jednej strony poprawia to marmurkowatość mięsa, a tym samym cechy sensoryczne, m.in. kruchość, soczystość i smakowitość [Domaradzki i in. 2016], z drugiej natomiast sprawia, że tak pozyskane mięso wołowe zawiera stosunkowo dużo kwasów tłuszczowych nasyconych (SFA; 45–48%), nieco mniej kwasów jednonienasyconych (MUFA; 35–45%) i do 15% wielonienasyconych (PUFA), zwłaszcza z rodziny n-6. Stosunek kwasów wielonienasyconych do nasyconych (P/S) jest zazwyczaj niski (ok. 0,1), a proporcja kwasów n-6/n-3 zawiera się w przedziale od 5,5 do 23 [Indurain i in. 2010, Scollan i in. 2017]. Ze zdrowotnego punktu widzenia taki profil kwasów tłuszczowych mięsa jest bardzo niepożądany, stąd też często jest krytykowany. Jak podkreśla Simopoulos [2002], nadmiar kwasów n-6 w diecie oraz wysoka (ok. 15) proporcja kwasów n-6 do n-3 może sprzyjać rozwojowi różnych chorób, m.in. układu krążenia, zapalnych, autoimmunologicznych oraz nowotworów, z kolei zwiększenie poziomu PUFA n-3, przy jednoczesnym zachowaniu niskiego stosunku n-6/n-3 (w zakresie 1–5) może wręcz przeciwdziałać takim schorzeniom. Utrzymanie równowagi pomiędzy kwasami tłuszczowymi n-6 i n-3 oraz ich właściwa podaż w diecie są niezwykle istotne z punktu widzenia homeostazy i prawidłowego przebiegu różnych procesów w organizmie człowieka [Simopoulos 2016].

Należy również pokreślić, iż wraz ze wzrostem zawartości tłuszczu w mięsie zwiększa się głównie poziom triacylogliceroli (obojętnych lipidów, zlokalizowanych głównie w adipocytach) bogatych w SFA i MUFA, natomiast fosfolipidy (polarnie lipidy, wchodzące w skład błon komórkowych), zawierające pożądane z żywieniowego punktu widzenia PUFA, pozostają zasadniczo na niezmiennym poziomie. Dlatego też w miarę wzrostu koncentracji tłuszczu śródmięśniowego w mięsie względny udział PUFA oraz wskaźnik P/S ulegają zmniejszeniu [De Smet i in. 2004]. W badaniach, które przeprowadzili Duckett i in. [1993], wykazano, że wraz ze wzrostem okresu intensywnego żywienia wołców, zwiększa się również zawartość tłuszczu w mięsie, tzn. z 2,52% (po okresie pastwiskowym), poprzez 8,67% w 112. dniu opasu, do 11,65% w ostatnim 196. dniu opasu. Jakkolwiek poziom fosfolipidów w trakcie całego okresu opasu pozostał zasadniczo na niezmiennym poziomie (0,50%), to obserwowano liniowy spadek udziału PUFA w fosfolipidach mięśniowych, a ich łączna zawartość zmniejszyła się o 34%.

W Stanach Zjednoczonych przed 1850 r. praktycznie całe bydło utrzymywane i żywione było na wolnym wybiegu lub na pastwiskach i zazwyczaj ubijane w wieku 4–5 lat. Postęp technologiczny i zwiększenie zbiorów zboża umożliwi-

ły rozwój intensywnych systemów żywienia o wysokiej koncentracji energii i białka w dawkach pokarmowych, w których produkowano żywiec rzeźny o masie 545 kg w ciągu 24 miesięcy. Obecnie taką wydajność można osiągnąć już w wieku 13–15 miesięcy [Cordain 2009]. W opinii wielu autorów zarówno sposób, jak i intensywność żywienia zwierząt są najważniejszym i najbardziej efektywnym czynnikiem modyfikowania profilu kwasów tłuszczowych w mięsie. Jednakże takie modyfikacje są znacznie łatwiejsze w przypadku zwierząt monogastrycznych (świnie i drób), u których w wyniku odpowiedniego żywienia następują szybkie zmiany w zawartości pożądaných w tkance mięśniowej kwasów tłuszczowych, tj.  $\alpha$ -linolenowego (C18:3n-3 ALA), oraz długołańcuchowych wielonienasyconých kwasów tłuszczowych (LC-PUFA), takich jak kwas eikozapentaenowy (C20:5n-3 EPA) i dokozaheksaenowy (C22:6n-3 DHA). Z kolei u zwierząt przeżuwających, z uwagi na specyficzną budowę ich układu pokarmowego oraz mikroflorę żwaczową, zwiększenie udziału kwasów tłuszczowych n-3 w tkankach jest dużym wyzwaniem. Większość dostarczanych z paszą nienasyconých kwasów tłuszczowych ulega bowiem procesowi biouwodorowania do kwasów nasyconých i jednonasyconých, i w takiej postaci odkładana jest w tkankach tłuszczowych. Kwasy PUFA są toksyczne dla większości bakterii żwaczowych, dlatego też w celu zmniejszenia ich szkodliwego wpływu mikroorganizmy izomeryzują i uwodorniają PUFA, prowadząc do nagromadzenia zarówno produktów całkowitego (kwasu stearynowego), jak i częściowego ich uwodornienia, tj. sprzężonych trienów, sprzężonych i niesprężonych dienów oraz jednonienasyconých kwasów tłuszczowych (MUFA), z bardzo zróżnicowanym występowaniem miejsc wiązań podwójnych w łańcuchu węglowodorowym oraz konfiguracji cis/trans. Końcowymi produktami enzymatycznego uwodorniania pochodzących z paszy kwasów C18:2n-6 oraz C18:3n-3 są głównie kwas stearynowy (C18:0), sprzężone dieny kwasu linolowego (głównie CLA cis-9, trans-11 i CLA trans-11, cis-15) oraz kwas wakcenowy (C18:1 trans-11) [Juárez i in. 2011, Vahmani i in. 2015]. Mimo że paszowe PUFA ulegają biouwodorowaniu w żwaczu, to część z nich omija żwacz i może być w niezmienionej formie absorbowana i odkładana w tkankach, co prowadzi do wzrostu zawartości biologicznie cenných kwasów tłuszczowych w mięsie. Wzbogacenie diety przeżuwaczy olejem rybnym również prowadzi do biouwodorowania kwasów EPA i DHA, jednakże w mniejszym stopniu niż kwasów linolowego (C18:2n-6 LA) i  $\alpha$ -linolenowego (C18:3n-3 ALA) [Zymon i Strzetelski 2010]. Należy również zauważyć, iż mikroorganizmy żwaczowe są odpowiedzialne za syntezę nieparzystych (C15:0 i C17:0) i rozgałęzioných (np. izo i anteizo C15:0 i C17:0) kwasów tłuszczowych, o potwierdzonym działaniu prozdrowotnym, które także wbudowywane są w surowce (mięso i mleko) pozyskiwane od przeżuwaczy [Adamska i Rutkowska 2014].

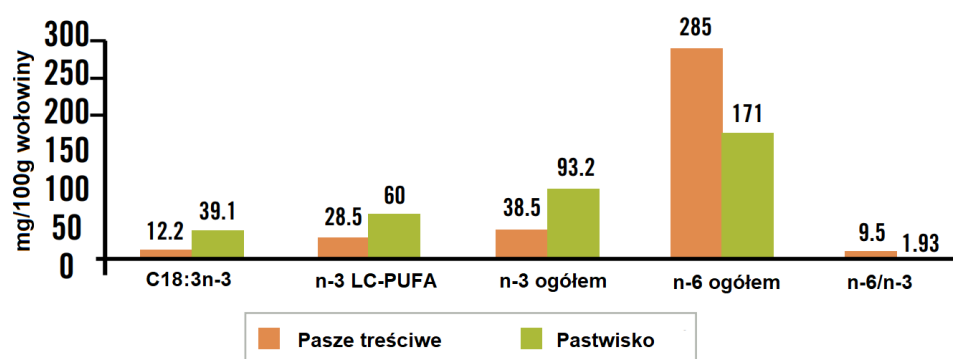
Jednym z naturalnych i efektywných ekonomicznie sposobów modyfikacji kwasów tłuszczowych w mięsie jest obniżenie intensywności żywienia zwierząt, zwłaszcza w końcowym okresie opasu, polegające na zwiększeniu w dawce pokarmowej pasz objętościowych w stosunku do treściwych [Rule i in. 1997, Raes i in. 2004], bogatých wielonienasyconých kwasów tłuszczowych (PUFA)



z rodziny n-3 [Realini i in. 2004, Marino i in. 2006]. Paszy pozyskiwanej z trwałych użytków zielonych, zwłaszcza trawom i roślinom motylkowatym występującym w runi pastwiskowej, przypisuje się w tym względzie szczególną rolę [Scollan i Wood 2006]. Zielonka pastwiskowa lub kiszonka z runi łąkowej, w porównaniu z paszą treściwą, zawierają więcej wielonienasyconych kwasów tłuszczowych z rodziny n-3 i mają korzystniejszy stosunek PUFA n-6/n-3. Pasze treściwe oparte na zbożach, jak również kiszonka z kukurydzy są głównymi źródłami kwasu linolowego (C18:2n-6 LA) w diecie zwierząt. Udział kwasu C18:3n-3 w zielonce pastwiskowej jest od 10 do 15 razy wyższy niż w zbożach lub typowych koncentratkach paszowych [Dannenberger i in. 2004]. Stosowanie świeżej lub zakiszzonej zielonki w żywieniu bydła wpływa zatem korzystnie na koncentrację PUFA n-3 w tłuszczu śródmięśniowym [Duckett i in. 1993, Scollan i Wood 2006]. Należy jednak pamiętać, iż nadmierne obniżenie intensywności żywienia bydła w okresie opasania poprzez ograniczenie ilości podawanej paszy treściwej może przyczynić się do pogorszenia efektywności opasu, wartości rzeźnej i jakości mięsa [Berthiaume i in. 2006, Dannenberger i in. 2006]. Wielu autorów [French in. 2000, Marino i in. 2006] wykazało, że większemu udziałowi żywienia pastwiskowego i jednocześnie niższemu pasz treściwych w diecie zwierząt towarzyszy zmniejszenie w tłuszczu śródmięśniowym udziału kwasów SFA (zwłaszcza C16:0 oraz C18:0) i kwasu C18:2n-6, zwiększa się natomiast udział MUFA (C18:1) oraz PUFA (zwłaszcza C18:3n-3) i CLA. W konsekwencji prowadzi to do zwiększania proporcji P/S oraz spadku proporcji n-6/n-3, tj. poprawy wskaźników charakteryzujących jakość prozdrowotną tłuszczu. Podobnie Bilik i in. [2009] wskazują, iż obniżenie intensywności żywienia korzystnie wpływa na zwiększenie zawartości kwasów tłuszczowych n-3, w tym długołańcuchowych (EPA i DHA), sumę izomerów CLA oraz proporcję n-6/n-3. Wykazali ponadto, że rodzaj skarmianej paszy objętościowej, w tym koncentracja energii w dawce pokarmowej, również ma istotne znaczenie. O'Sullivan i in. [2002] stwierdzili w mięsie pozyskanym od buhajków żywionych kiszonką z traw większy udział kwasu C18:3n-3 w porównaniu z mięsem zwierząt karmionych kiszonką z kukurydzy oraz mieszanką złożoną z obu rodzajów kiszonek (z kukurydzy i traw 50 : 50), odpowiednio 1,78% vs. 0,80% vs. 1,37%.

Prowadzenie opasu młodego bydła rzeźnego w systemie pastwiskowym to najkorzystniejszy sposób żywienia zwierząt nie tylko z punktu widzenia ekonomiki produkcji (największy udział w strukturze kosztów produkcji zwierzęcej stanowi żywienie), ale również postrzegania przez konsumentów takiego systemu jako bardziej proekologicznego i przyjaznego środowisku. Korzystny wpływ żywienia przeżuwaczy zielonką pastwiskową na skład lipidów mięśniowych jest w literaturze dość dobrze znany i udokumentowany [Wood i in. 2008, Scollan i in. 2014]. Żywienie pastwiskowe bydła w porównaniu z opartym wyłącznie o pasze treściwe zwiększa udział C18:3n-3 w lipidach mięśniowych, który może być następnie endogennie desaturowany i wydłużany do długołańcuchowych kwasów tłuszczowych (n-3 LC-PUFA), tj. EPA, DPA lub DHA [Dannenberger i in. 2004]. Dla porównania, pasze treściwe bogate w C18:2n-6 zwiększają udział tego kwasu tłuszczowego w tkance mięśniowej, jak również jego pochod-

nej o dłuższym łańcuchu węglowym – kwasu arachidonowego (C20:4n-6 AA) [Scollan i in. 2006]. Wołowina pozyskana od zwierząt utrzymywanych na pastwisku dostarcza ponad 3-krotnie więcej C18:3n-3, 2-krotnie więcej n-3 LC-PUFA i blisko 2,5-krotnie więcej kwasów tłuszczowych n-3 ogółem w porównaniu z mięsem zwierząt żywionych paszami treściwymi (ryc. 1). Zwykle jest też 2–3-krotnie zasobniejsza w CLA [Daley i in. 2010, Tansawat i in. 2013] (tab. 3) oraz w kwas wakcenyowy (C18:1 11-trans VA), będący prekursorem CLA [Daley i in. 2010]. Niektórzy autorzy [Lorenz i in. 2002, Nuernberg i in. 2002, Dannenberger i in. 2004] wskazują na jeszcze większy i korzystniejszy wpływ żywienia pastwiskowego.



Ryc. 1. Różnice w zawartości kwasów tłuszczowych n-3 i n-6 w mięsie wołowym w zależności od systemu żywienia bydła [Cordain 2009]

Tabela 3. Zawartość kwasów tłuszczowych n-3 i CLA w porcji (85 g) mięsa wołowego w zależności od sposobu żywienia bydła [Tansawat i in. 2013]

Żywienie	Tłuszcz (%)	Kwasy tłuszczowe (g/100 g mięsa)	Kwasy tłuszczowe n-3		CLA	
			% sumy KT	mg/porcję 85 g	% sumy KT	mg/porcję 85 g
Pasza treściwa	12,43	9,34	0,4	31,8	0,1	7,9
Pastwisko	3,36	2,52	3,9	83,8	0,6	12,9

Proporcja n-6/n-3 w tłuszczu śródmięśniowym bydła utrzymywanego na pastwisku zawiera się w przedziale 1,44–3,72, a żywionego paszami treściwymi 3,00–10,38 [Daley i in. 2010]. Noci i in. [2005] wykazali, że wraz z wydłużeniem wypasu bydła na pastwisku w mięsie wzrasta liniowo udział CLA, VA, jak

również obserwuje się korzystniejsze relacje P/S (wzrost) i n-6/n-3 (spadek). Mięso wołowe pozyskane od zwierząt, w diecie których dominuje zielonka pastwiskowa, zawiera zwykle mniej tłuszczu (1,51–2,80%) w porównaniu z mięsem zwierząt żywionych paszami treściwymi (2,61–4,40%). Niemniej jednak przy bardzo intensywnym opasie bydła (wykorzystującym głównie ziarno zbóż i kiszonkę z kukurydzy) zawartość tłuszczu w mięsie niejednokrotnie może przekraczać 10% [Duckett i in. 1993, Cordain 2009, Tansawat i in. 2013].

Inną żywieniową metodą służącą do poprawy profilu kwasów tłuszczowych mięsa wołowego jest dodatek do dawek pokarmowych zwierząt nasion roślin oleistych, olejów roślinnych oraz rybnych czy alg morskich [Scollan i in. 2017]. Rośliny oleiste, np. len czy rzepak, są bogatym źródłem kwasu  $\alpha$ -linolenowego, z kolei olej rybny oraz algi morskie dostarczają długołańcuchowych kwasów tłuszczowych – EPA i DHA. Dodatek oleju nie może być jednak zbyt duży, zwłaszcza jeżeli jest on w formie niechronionej, gdyż negatywnie wpływa na funkcje żwacza i strawność dawki. Przyjmuje się, że łączna zawartość tłuszczu w kg suchej masy całej dawki nie powinna przekraczać 5–6% (do 60 g/kg s.m.). Wprowadzenie olejów niechronionych wiąże się również ze znacznym biouwodornieniem przez mikroorganizmy żwacza kwasów nienasyconych, w wyniku czego obserwuje się mniejszy wpływ dodatku oleju na zawartość cennych żywieniowo kwasów tłuszczowych w mięsie. W celu ograniczenia biouwodornienia kwasów PUFA stosuje się różne zabiegi osłaniające tłuszcze przed trawieniem w żwacu. W przypadku gdy w żywieniu bydła stosowane są nasiona pełne, śrutowane lub makuchy z roślin oleistych, zwarte w nich PUFA już z natury są częściowo chronione obecnym w ziarnie białkiem. Jednak skuteczniejszym sposobem jest stosowanie tzw. tłuszczów chronionych (*by-pass fat*), np. preparatów olejów roślinnych zamkniętych w otoczce białkowej traktowanej formaldehydem, soli wapniowych (mydeł) lub amidów kwasów tłuszczowych, ogrzewanych w wysokiej temperaturze nasion roślin oleistych czy kapsułkowanych olejów w matrycy wrażliwej na pH, która pozostaje nienaruszona w pH żwacza, ale zostaje uwolniona w trawieńcu przy pH niższym [Zymon i Strzetelski 2010, Scollan i in. 2014].

Generalnie suplementacja diety bydła nasionami lnu/olejem lnianym (bogatymi w kwas  $\alpha$ -linolenowy) powoduje zwiększenie udziału C18:3n-3 w tłuszczu śródmięśniowym i jednocześnie korzystne zmniejszenie proporcji kwasów n-6/n-3. Również nasiona słonecznika lub olej słonecznikowy (bogate w kwas linolowy) zwiększają stężenie C18:2n-6 w mięsie, ale towarzyszy temu niepożądany wzrost stosunku n-6/n-3. Juarez i in. [2011] wykazali, że 10% dodatek mielonych nasion lnu do diety opasów zwiększył w mięsie udział kwasów tłuszczowych n-3 ogółem (z 0,95% do 2,41%), w tym przede wszystkim kwasu C18:3n-3 (z 0,36% do 1,60%) oraz EPA (z 0,13% do 0,25%). Poprawiła się również proporcja n-6/n-3, zmniejszając się z 4,11 do 1,54. Efekt ten był jeszcze silniejszy, jeżeli dawka pokarmowa dodatkowo była suplementowana wysokim stężeniem witaminy E. Podobne wyniki uzyskali Marino i in. [2019], stosując w żywieniu walców 10% dodatek całych nasion lnu. W mięsie zwierząt z grupy doświadczalnej obserwowali ponadto spadek udziału SFA w tłuszczu śródmię-

śniowym (przeciętnie o 3,59%), jak również wzrost CLA (średnio o 0,26%). Ponadto wykazali, że w celu zwiększenia wartości żywieniowej mięsa wołowego już 2,5-miesięczny okres suplementacji nasionami lnu zwierząt przed ubojem jest wystarczający.

Scollan i in. [2014] podają, że wzbogacanie diety bydła w kwas  $\alpha$ -linolenowy zazwyczaj zwiększa również udział EPA i DHA w tłuszczu śródmięśniowym. Dodatek komponentów paszowych bogatych w PUFA zwykle powoduje niewielki, ale statystycznie istotny spadek udziału SFA w lipidach, zwłaszcza hipercholesterolemicznego kwasu palmitynowego (C16:0).

Skuteczną metodą zwiększenia udziału długołańcuchowych wielonienasyconych kwasów tłuszczowych n-3 w mięsie wołowym jest dodatek do paszy chronionego oleju rybnego, dzięki któremu obserwowano 2-krotny wzrost zawartości C18:3n-3 oraz 4-krotny wzrost EPA i DHA w mięsie bydła suplementowanego takim dodatkiem [Scollan i in. 2017]. Ponadto Enser i in. [1999], skarmiając przez 120 dni paszę wzbogaconą nasionami lnu lub olejem rybnym, uzyskali istotny wzrost koncentracji kwasu CLA z 3,2 do 8,8 mg/g tłuszczu śródmięśniowego.

Spśród surowców pozyskiwanych od bydła szczególną pozycję zajmuje cielęcina, ceniona przez konsumentów zarówno ze względu na walory organoleptyczne, jak i dietetyczne. Zgodnie z obowiązującymi wymaganiami prawa UE mięso cielęce można pozyskać od młodego (niedojrzałego) bydła do 8. miesiąca życia, niezależnie od systemu żywienia zwierząt. W Polsce cielęcina najczęściej kojarzona jest z mięsem bardzo młodych zwierząt karmionych mlekiem (lub preparatami mlekozastępczymi) i ubijanych wieku 7–8 tyg. Ciekawą alternatywą dla tej kategorii bydła stanowią tzw. cielęta odsadki, tzn. cielęta ras mięsnych utrzymywane z matkami na pastwisku do wieku 6–8 miesięcy. Sprawia to, że w relatywnie krótkim okresie (jednego roku kalendarzowego) można pozyskać zarówno wartościowy materiał rzeźny (o dobrym uformowaniu tusz i dużej wydajności), jak i surowiec (mięso) zawierający wartościowe i funkcjonalne składniki odżywcze, co jest efektem synergistycznego wpływu żywienia pastwiskowego i zwykle nieograniczonego dostępu do mleka matki [Krawiec i in. 2020]. Wprawdzie profil kwasów tłuszczowych mięsa cieląt odsadków w zakresie udziału SFA (34–52%) i MUFA (30–51%) jest zbliżony do mięsa dorosłego bydła rzeźnego, niemniej w przypadku PUFA charakteryzuje się dużą zmiennością w zakresie od 5% do nawet 31%. Taki specyficzny profil kwasów tłuszczowych determinowany jest specyficzną dietą zwierząt, tj. dużym udziałem mleka, pasz objętościowych (głównie zielonki pastwiskowej) i niewielkim udziałem pasz treściwych oraz nie w pełni rozwiniętym żwaczem i mikroflorą, dlatego też kwasy tłuszczowe z paszy w dużym stopniu w postaci niezmienionej, tj. bez biouwodorowania, mogą być wbudowywane w tkanki cieląt. Mięso cieląt odsadków wypasanych jednocześnie na pastwisku charakteryzuje się niską zawartością tłuszczu (< 2,5%), a przy tym może stanowić źródło unikalnych biologicznie kwasów tłuszczowych [Domaradzki i in. 2017]. Wykazano, że dłuższy okres dostępu cieląt do mleka matek oraz zielonki pastwiskowej wpływa korzystnie na wartość dietetyczną cielęciny. Mięso takie zawiera od 8,21% do

30,80% PUFA, w tym 5,64–6,89% n-3 PUFA, 0,31%–1,49% CLA, wartość proporcji P/S jest powyżej 0,45, a kwasów n6/n-3 poniżej 3,5 [Moreno i in. 2006, Ripoll i in. 2013, Domaradzki i in. 2017].

Jak już wcześniej wspomniano, w nauce o żywieniu człowieka często mięso czerwone postrzegane jest negatywnie jako znaczące źródło tłuszczu, niekorzystnych dla zdrowia nasyconych kwasów tłuszczowych i cholesterolu. W rzeczywistości jednak, jak wskazuje przedstawiony przegląd literatury, wołowina pochodząca z bydła opasanego z dużym udziałem pasz z trwałych użytków zielonych lub z dodatkiem nasion/olejów roślinnych, jest mięsem chudym (< 3% tłuszczu śródmięśniowego), o relatywnie korzystnym profilu kwasów tłuszczowych. Krajowe wyniki badań również potwierdzają tę tezę. Domaradzki i in. [2019] wskazują, że 100 g mięsa (steków) buhajków rasy holsztyńsko-fryzyjskiej opasanego dużym udziałem zielonki pastwiskowej zawierało nie więcej niż 2 g tłuszczu, 693,3 mg kwasów SFA i 24,3 mg kwasów tłuszczowych o konfiguracji trans. Taka porcja wołowiny w zaledwie 3,9% realizowała dzienne zapotrzebowanie na tłuszcz, w 5,3% na energię oraz odpowiednio w 3,8% i 1,4% maksymalne zalecane spożycie na kwasy SFA i trans. Była za to bardzo dobrym źródłem białka, pokrywając zapotrzebowanie osób dorosłych na ten składnik w zakresie od 29% aż do 45%. Warto podkreślić również fakt, iż zalecenia dietetyczne nie uwzględniają niektórych biologicznie czynnych kwasów tłuszczowych, np. CLA, VA, DPA (C22:5n-3), występujących w relatywnie dużej ilości w mięsie przeżuwaczy.

## Podsumowanie

Wśród wielu czynników wpływających na jakość mięsa wołowego do najważniejszych zaliczyć należy czynniki żywieniowe, w tym system żywienia i skład dawki pokarmowej. Współcześnie bydło rzeźne jest żywione w celu poprawy nie tylko stosunku tkanki mięśniowej do tłuszczowej w tuszy, ale przede wszystkim modyfikowania udziału oraz wzajemnej proporcji wielonienasyconych kwasów tłuszczowych (z grupy n-6 i n-3) w mięsie. Choć istnieje wiele żywieniowych metod kształtowania właściwości prozdrowotnych śródmięśniowego tłuszczu wołowego, to najlepszym i ekonomicznie uzasadnionym sposobem wydaje się być wykorzystanie w opasie bydła dobrych jakościowo pastwisk lub zielonki pastwiskowej, połączonych z niewielkim udziałem pasz treściwych, zapewniających odpowiednie przyrosty zwierząt. Koszty żywienia zasadniczo stanowią największy udział w strukturze kosztów produkcji zwierzęcej, a żywienie pastwiskowe może w znacznym stopniu zwiększać opłacalność produkcji żywca. Przez konsumentów taki system produkcji zwierzęcej również postrzegany jest pozytywnie – jako proekologiczny, przyjazny dla zwierząt oraz pozwalający uzyskać surowce o podwyższone walorach zdrowotnych.

Dobłą strategią żywieniową pozwalającą na uzyskanie pożądanego z punktu widzenia dietetycznego mięsa wołowego może być także zmniejszenie inten-

sywności żywienia zwierząt w końcowym okresie opasania poprzez zwiększenie w dawce pokarmowej pasz objętościowych (np. zielonki pastwiskowej czy kiszonki z traw), połączone z dodatkiem nasion roślin oleistych (w warunkach krajowych przede wszystkim lnu).

## Piśmiennictwo

- Adamska A., Rutkowska J., 2014. Odd- and branched-chain fatty acids in milk fat – characteristic and health properties. *Postepy Hig. Med. Dosw.* 68, 957–966, <https://doi.org/10.5604/17322693.1118188>
- Berthiaume R., Mandell J., Faucitano L., Lafreniere C., 2006. Comparison of alternative beef production systems based on forage finishing or grain-forage diets with or without growth promotants: 1. Feedlot performance, carcass quality, and production costs. *J. Anim. Sci.* 84, 2168–2177, <https://doi.org/10.2527/jas.2005-328>
- Bilik K., Węglarzy K., Choroszy Z., 2009. Wpływ intensywności żywienia buhajków rasy Limousin na wskaźniki produkcyjne i właściwości dietetyczne mięsa. *Rocz. Nauk. Zoot.* 36, 1, 63–73.
- Boada L. D., Henríquez-Hernandez L. A., Luzardo O. P., 2016. The impact of red and processed meat consumption on cancer and other health outcomes. *Epi. Evidence. Food Chem. Toxicol.* 92, 236–244, <https://doi.org/10.1016/j.fct.2016.04.008>
- Chowdhury R., Warnakula S., Kunutsor S., Crowe F., Ward H.A., Johnson L., Franco O.H., Butterworth A.S., Forouhi N.G., Thompson S.G., Khaw K.T., Mozaffarian D., Danesh J., Di Angelantonio E., 2014. Association of dietary, circulating, and supplement fatty acids with coronary risk: a systematic review and meta-analysis. *Ann Inter. Med.* 160, 6, 398–406, <https://doi.org/10.7326/M13-1788>
- Cordain L., 2009. Nutritional differences between grass and grain fed beef. *The Paleo Diet, LLC, Boulder, Colorado*, 1–19.
- Daley C.A., Abbott A., Doyle P.S., Nader G.A., Larson S.A., 2010. Review of fatty acid profiles and antioxidant content in grass-fed and grain fed beef. *Nut. J.* 9, 1, 1–12, <https://doi.org/10.1186/1475-2891-9-10>
- Dannenberger D., Nuernberg G., Scollan N. i in., 2004. Effect of diet on the deposition of n-3 fatty acids, conjugated linoleic and C18:1 trans fatty acid isomers in muscle lipids of German Holstein bulls. *J. Agric. Food Chem.* 52, 6607–6615, <https://doi.org/10.1021/jf0495111>
- Dannenberger D., Nuernberg K., Nuernberg G., Ender K., 2006. Carcass- and meat quality of pasture vs. concentrate fed German Simmental and German Holstein bulls. *Arch. Tierz. Dummerstorf.* 49, 4, 315–328.
- De Smet S., Raes K., Demeyer D., 2004. Meat fatty acid composition as affected by fatness and genetic factors: A review. *Anim. Res.* 53, 81–98, <https://doi.org/10.1051/animres:2004003>
- Domaradzki P., Florek M., Litwińczuk A., 2016. Czynniki kształtujące jakość mięsa wołowego. *Wiad. Zoot.* 2, 160–170.
- Domaradzki P., Stanek P., Litwińczuk Z., Skałecki P., Florek M., 2017. Slaughter value and meat quality of suckler calves: A review. *Meat Sci.* 134, 135–149, <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2017.07.026>
- Domaradzki P., Żółkiewski P., Litwińczuk A., Florek M., Dmoch M., 2019. Profil i wartość odżywcza kwasów tłuszczowych w wybranych mięśniach szkieletowych buhajków rasy polskiej holsztyńsko-fryzyskiej. *Med. Wet.* 75, <https://doi.org/310-315>, 10.21521/mw.6208
- Duckett S.K., Wagner D.G., Yates L.D., Dolezal H.G., May S.G., 1993. Effects of time on feed on beef nutrient composition. *J. Anim. Sci.* 71, 2079–2088, <https://doi.org/10.2527/1993.7182079x>
- Enser M., Scollan N.D., Choi N.J., Kurt E., Hallett K., Wood J.D., 1999. Effect of dietary lipid content on the conjugated linoleic acid (CLA) in beef muscle. *Anim. Sci.* 69, 143–146.

- French P., Stanton C., Lawless F. i in., 2000. Fatty acid composition, including conjugated linoleic acid, of intramuscular fat from steers offered grazed grass, grass silage, or concentrate-based diets. *J. Anim. Sci.* 78, 2849–2855, <https://doi.org/10.2527/2000.78112849x>
- Hocquette J.F., Gondret F., Baéza E., Médale F., Jurie C., Pethick D.W., 2010. Intramuscular fat content in meat-producing animals: development, genetic and nutritional control, and identification of putative markers. *Animal* 4, 2, 303–319, <https://doi.org/10.1017/S1751731109991091>
- Indurain G., Beriain M.J., Sarries M.V., Insausti K., 2010. Effect of weight at slaughter and breed on beef intramuscular lipid classes and fatty acid profile. *Animal* 4, 10, 1771–1780, <https://doi.org/10.1017/S1751731110000923>
- Juárez M., Dugan M.E., Aalhus J.L., Aldai N., Basarab J.A., Baron V.S., McAllister T. A., 2011. Effects of vitamin E and flaxseed on rumen-derived fatty acid intermediates in beef intramuscular fat. *Meat Sci.* 88, 3, 434–440, <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2011.01.023>
- Kinal S., 2004. Możliwość modyfikowania mięsa wołowego czynnikami żywieniowymi. *Zesz. Nauk. AR Wroc. Zoot.* 52, 115–123.
- Krawiec A., Domaradzki P., Skąlecki P., Żółkiewski P., Stanek P., Florek M. i in., 2020. Wpływ dodatku siemienia lnianego w dawkach pokarmowych cieląt odsadków rasy limousine na wartość rzeźną i skład chemiczny mięsa. [W:] W. Chabuz, B. Nowakowicz-Dębek (red.), *Wybrane zagadnienia produkcji zwierzęcej*. Wyd. UP w Lublinie, 88–95.
- Lorenz S., Buettner A., Ender K., Nürnberg G., Papstein H.J., Schieberle P., Nürnberg K., 2002. Influence of keeping system on the fatty acid composition in the longissimus muscle of bulls and odorants formed after pressure-cooking. *Eur. Food Res. Technol.* 214, 112–118, <https://doi.org/10.1007/s00217-001-0427-4>
- Maltin C., Balcerzak D., Tilley R., Delday M., 2003. Determinants of meat quality: Tenderness. *Proc. Nutr. Soc.* 62, 2, 337–347, <https://doi.org/10.1079/PNS2003248>
- Marino R., Albenzio M., Girolami A., Muscio A., Sevi A., Braghieri A., 2006. Effect of forage to concentrate ratio on growth performance, and on carcass and meat quality of Podolian young bulls. *Meat Sci.* 72, 3, 415–424, <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2005.08.007>
- Marino R., Della Malva A., Caroprese M., de Palo P., Santillo A., Sevi A., Albenzio M., 2019. Effects of whole linseed supplementation and treatment duration on fatty acid profile and endogenous bioactive compounds of beef muscle. *Animal* 13, 2, 444–452, <https://doi.org/10.1017/S1751731118001635>
- McAfee A. J., Emmeir M., McSorley A., Geraldine J., Cuskelly B., Bruce W., Moss C., Julie M.W., Wallace A., Maxine P., Bonham A., Fearon A. M., 2010. Red meat consumption: An overview of the risks and benefits. *Meat Sci.* 84, 1–13, <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2009.08.029>
- Micha R., Wallace S.K., Mozaffarian D., 2010. Red and processed meat consumption and risk of incident coronary heart disease, stroke, and diabetes mellitus: a systematic review and meta-analysis. *Circulation* 121, 2271–2283, <https://doi.org/10.1161/circulationaha.109.924977>
- Miller M.F., Carr M.A., Ramsey C.M., Crockett K.L., Hoover L.C., 2001. Consumer thresholds for establishing the value of beef tenderness. *J. Anim. Sci.* 79, 3062–3068, <https://doi.org/10.2527/2001.79123062x>
- Moreno T., Varela, A., Oliete, B., Carballo, J. A., Sánchez, L., Montserrat, L., 2006. Nutritional characteristics of veal from weaned and unweaned calves: Discriminatory ability of the fat profile. *Meat Sci.* 73, 209–217, <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2005.11.016>
- NIZP-PZH. Zalecenia zdrowego żywienia. Narodowy Instytut Zdrowia Publicznego – Państwowy Zakład Higieny, Warszawa 2020.
- Noci F., Monahan F.J., French P., Moloney A.P., 2005. The fatty acid composition of muscle fat and subcutaneous adipose tissue of pasture-fed beef heifers: influence of the duration of grazing. *J. Anim. Sci.* 83, 5, 1167–78, <https://doi.org/10.2527/2005.8351167x>
- Nuernberg K., Nuernberg G., Ender K., Lorenz S., Winkler K., Rickert R. Steinhart H., 2002. N–3 fatty acids and conjugated linoleic acids of longissimus muscle in beef cattle. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* 104, 463–471, [https://doi.org/10.1002/1438-9312\(200208\)104:8<463::AID-EJLT463>3.0.CO;2-U](https://doi.org/10.1002/1438-9312(200208)104:8<463::AID-EJLT463>3.0.CO;2-U)
- O’Sullivan A., O’Sullivan K., Galvin K., Moloney A.P., Troy D.J., Kerry J.P., 2002. Grass silage versus maize silage effects on retail packaged beef quality. *J. Anim. Sci.* 80, 1556–1563, <https://doi.org/10.2527/2002.8061556x>

- Olmedilla-Alonso B., Jiménez-Colmenero F., Sánchez-Muniz F.J., 2013. Development and assessment of healthy properties of meat and meat products designed as functional foods. *Meat Sci.* 95, 919–930, <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2013.03.030>
- Public Health England. The Eatwell Guide. Helping you eat a healthy, balanced diet, London 2018.
- Raes K., Haak L., Balcaen A., Claeys E., Demeyer D., Smet S., 2004. Effect of feeding linseed at similar linoleic acid levels on the fatty acid composition of double-muscling Belgian Blue young bulls. *Meat Sci.* 66, 307–315, [https://doi.org/10.1016/S0309-1740\(03\)00105-0](https://doi.org/10.1016/S0309-1740(03)00105-0)
- Realini C.E., Duckett S.K., Brito G.W., Rizza M.D., De Mattos D., 2004. Effect of pasture vs. concentrate feeding with or without antioxidants on carcass characteristics, fatty acid composition, and quality of Uruguayan beef. *Meat Sci.* 66, 567–577, [https://doi.org/10.1016/S0309-1740\(03\)00160-8](https://doi.org/10.1016/S0309-1740(03)00160-8)
- Ripoll G., Albertí P., Casasús I., Blanco M., 2013. Instrumental meat quality of veal calves reared under three management systems and color evolution of meat stored in three packaging systems. *Meat Sci.*, 93, 336–343, <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2012.09.012>
- Rule D.C., Smith S.B., Romans J.R., 1997. Fatty acid composition of muscle and adipose tissue of meat animals. *Biol. Fat. Meat Anim.* 144–165.
- Scollan N., Hocquette J. F., Nuernberg K., Dannenberger D., Richardson I., Moloney A., 2006. Innovations in beef production systems that enhance the nutritional and health value of beef lipids and their relationship with meat quality. *Meat Sci.* 74, 1, 17–33, <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2006.05.002>
- Scollan N.D., Dannenberger D., Nuernberg K., Richardson I., MacKintosh S., Hocquette J. F., Moloney A. P., 2014. Enhancing the nutritional and health value of beef lipids and their relationship with meat quality. *Meat Sci.* 97, 3, 384–394, <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2014.02.015>
- Scollan N.D., Price E.M., Morgan S.A., Huws S.A., Shingfield K.J., 2017. Can we improve the nutritional quality of meat? *Proc. Nutr. Soc.* 76, 603–618, <https://doi.org/10.1017/S0029665117001112>
- Scollan N.D., Wood J.D., 2006. Enhancing the nutritional value of beef and relationships with meat quality. *Anim. Sci.* 1, 83–85.
- Simopoulos A.P., 2002. The importance of the ratio of omega-6/omega-3 essential fatty acids. *Biomed. Pharmacother.* 56, 365–379, [https://doi.org/10.1016/s0753-3322\(02\)00253-6](https://doi.org/10.1016/s0753-3322(02)00253-6)
- Simopoulos A.P., 2016. An increase in the omega-6/omega-3 fatty acid ratio increases the risk for obesity. *Nutrients*, 8, 128–145, <https://doi.org/doi:10.3390/nu8030128>
- Tansawat R., Maughan C.A., Ward R.E., Martini S., Cornforth D.P., 2013. Chemical characterisation of pasture-and grain-fed beef related to meat quality and flavour attributes. *Inter. J. Food Sci. Tech.* 48, 3, 484–495, <https://doi.org/10.1111/J.1365-2621.2012.03209.X>
- Vahmani P., Mapiye C., Prieto N., Rolland D.C., McAllister T.A., Aalhus J.L., Dugan M.E., 2015. The scope for manipulating the polyunsaturated fatty acid content of beef: a review. *J. Anim. Sci. Biotechnol.* 6, 1, 1–13.
- Verbeke W., Van Wezemael L., de Barcellos M.D., Kügler J.O., Hocquette J.F., Ueland Ø., Grunert K.G., 2010. European beef consumers' interest in a beef eating-quality guarantee: insights from a qualitative study in four EU countries. *Appetite* 54, 2, 289–296, <https://doi.org/10.1016/j.appet.2009.11.013>
- Webb E.C., 2006. Manipulating beef quality through feeding. *South Afr. J. Food Sci. Nut.* 7, 1, 1–24.
- Wood J.D., Enser M., Fisher A.V. i in., 2008. Fat deposition, fatty acid composition and meat quality: A review. *Meat Sci.* 78, 343–358, <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2007.07.019>
- Zymon M., Strzetelski J., 2010. Sposoby poprawy właściwości prozdrowotnych mięsa bydłęcego. *Wiad. Zoot.* 4, 53–63.



## ROZDZIAŁ 3

Piotr Domaradzki, Piotr Stanek, Paweł Żółkiewski, Aneta Krawiec, Mariusz Florek,  
Marek Kowalczyk, Piotr Skałeczki, Monika Kędzierska-Matysek

# Żywnościowe metody modyfikowania wartości odżywczej i cech sensorycznych mięsa wołowego – zawartość witamin i składników mineralnych oraz jakość sensoryczna

## Wstęp

Jedną z najlepszych strategii żywieniowych pozwalających zwiększyć koncentrację w mięsie nieenzymatycznych przeciwutleniaczy, m.in. flawonoidów, witaminy C, E,  $\beta$ -karotenu i innych karotenoidów, jest wykorzystanie w opasie zwierząt zielonki pastwiskowej. Zapewnia to nie tylko odpowiednią wartość odżywczą surowca (zawartość witamin czy kwasów tłuszczowych n-3), ale również korzystnie wpływa na inne istotne wyróżniki jakościowe mięsa, m.in. stabilność oksydacyjną lipidów oraz barwę [Descalzo i Sancho 2008]. Stosunkowo efektywną metodą zwiększenia wartości odżywczej mięsa wołowego oraz poprawy cech organoleptycznych (zwłaszcza kruchości), jak również podniesienia jego statusu antyoksydacyjnego jest suplementacja dawek pokarmowych bydła witaminami A, E i D, niektórymi składnikami mineralnymi (np. selenem) oraz ziołami. Ekstrakty roślinne stosowane w żywieniu bydła korzystnie wpływają na funkcjonowanie żywca zwierząt, zwiększając w nim populację drobnoustrojów, które efektywniej wykorzystują azot i energię. Przyczynia się to nie tylko do zintensyfikowania produktywności zwierząt, ale również zahamowania niepożądanych procesów, takich jak metanogeneza [Castillo i in. 2013, 2015].

W kontekście modyfikacji żywieniowych należy również pamiętać o innych niezwykle istotnych z punktu widzenia konsumentckiego cechach jakościowych mięsa, tj. barwie, smakowości czy kruchości. Zadowalający poziom tych parametrów (zwłaszcza kruchości), dodatkowo połączony z wysoką wartością odżywczą mięsa może być głównym czynnikiem motywującym konsumentów do zakupu tego typu wołowiny.

## Wpływ żywienia bydła na zawartość witamin w wołowinie

Wołowina niezależnie od sposobu żywienia bydła jest ważnym źródłem witamin z grupy B (zwłaszcza niacyny, pirodyksyny i kobalaminy) oraz witamin A i E [Daley i in. 2010, Williamson i in. 2005]. Spośród witamin z grupy B warto zwrócić uwagę na witaminę B<sub>12</sub> (kobalaminę), bowiem mięso uważane jest za jedno z głównych jej źródeł w diecie człowieka.

Jakkolwiek przyjmuje się, że przeżuwacze nie wymagają suplementacji witamin z grupy B, ponieważ wystracający ich poziom zapewnia prowadzona w żwaczu przez mikroorganizmy synteza, to poprzez żywienie można wpływać na aktywność mikroflory żwaczowej, a tym samym i na poziom tych biologicznie czynnych substancji [Combs 1998]. Przykładem jest witamina B<sub>12</sub>, której synteza w żwaczu zmniejsza się wraz z udziałem w dawce pokarmowej węglowodanów niestrukturalnych, np. świeżej zielonki lub pasz treściwych [Schwab i in. 2006]. Ten niekorzystny efekt może być częściowo ograniczony poprzez stosowanie w żywieniu zwierząt stymulatorów wzrostu, aczkolwiek zabronionych w UE [Girard i in. 2007], lub poprzez suplementację kobaltem (Co). Pierwiastek ten jest integralnym składnikiem witaminy B<sub>12</sub> i w kilku badaniach wykazano wzrost stężenia kobalaminy w osoczu krwi przy jednoczesnej suplementacji zwierząt kobaltem [Stangl i Schwarz 1999, Tiffany i in. 2003, Waterman i in. 2017, González-Montaña i in. 2020].

Duckett i in. [2009], oceniając wpływ systemu żywienia (pastwiskowe vs. intensywne) na wartość odżywczą wołowiny, wykazali 2-krotnie wyższą zawartość witaminy B<sub>2</sub> (ryboflawiny; 457,34 vs. 224,15 µg/100 g) i niemal 3-krotnie wyższą zawartością witaminy B<sub>1</sub> (tiaminy; 70,65 vs. 23,99 µg/100 g) w mięsie bydła wypasanego na pastwisku.

Spośród witamin o charakterze antyoksydacyjnym w mięsie największe znaczenie mają witaminy A i E. Są to związki rozpuszczalne w tłuszczach, dlatego też ich stężenie jest ściśle związane z zawartością lipidów w mięsie. Rooke i in. [2010] podają, że w przeciwieństwie do rozpuszczalnych w wodzie witamin z grupy B, podaż witamin rozpuszczalnych w tłuszczach z paszy odzwierciedla ich zawartość w mięsie przeżuwaczy, bowiem są one odporne (witamina E) lub częściowo odporne (witamina A) na degradację żwaczową. Witamina E występuje w 8 różnych izoformach, z których największą aktywność przeciwutleniającą wykazuje α-tokoferol [Daley i in. 2010]. Scollan i in. [2014] wskazują, że poziom witaminy E w mięsie może być modyfikowany poprzez włączanie do diety zwierząt olejów roślinnych zasobnych w tokoferole. W wielu doświadczeniach wykazano korzystny wpływ żywienia pastwiskowego bydła na zawartość α-tokoferolu w mięsie wołowym (tab. 1). Zasadniczo mięso bydła wypasanego na pastwisku zawiera od 1,3 do 5,4 razy więcej α-tokoferolu niż bydło utrzymywane w systemie intensywnym (żywionego paszami treściwymi; tab. 1). Oprócz wyższej wartości odżywczej wołowiny z systemu pastwiskowego dodatkowym jej atrybutem jest także mniejsza podatność na procesy utleniania. Descalzo i in. [2005] podkreślają, że suplementacja witaminą E (500 IU/dzień)

dawek pokarmowych bydła żywionego intensywnie (ziarno kukurydzy + siano) korzystnie wpływała na status antyoksydacyjny takiego mięsa, ale w mniejszym stopniu niż wołowiny pozyskanej od zwierząt wypasanych na pastwisku. Pomimo suplementacji w mięsie bydła żywionego intensywnie nadal obserwowano niemal 2-krotnie niższy poziom  $\alpha$ -tokoferolu niż w mięsie zwierząt utrzymywanych na pastwisku (176 vs. 308  $\mu\text{g}/100\text{ g}$ ).

Tabela 1. Zawartość  $\alpha$ -tokoferolu w mięsie wołowym w zależności od systemu żywienia bydła

$\alpha$ -tokoferol ( $\mu\text{g}/100\text{ g}$ )*		Źródło
wypas pastwiskowy	żywienie intensywne	
407	75	de la Fuente i in. 2009
206	79	Insani i in. 2008
308	150	Descalzo i in. 2005
391	292	Realini i in. 2004
450	180	Yang i in. 2002
773,43	199,23	Duckett i in. 2009

\* wszystkie wartości pomiędzy systemami żywienia różniły się istotnie przy  $p < 0,05$

Tabela 2. Zawartość  $\beta$ -karotenu w mięsie wołowym w zależności od systemu żywienia bydła

$\beta$ -karoten ( $\mu\text{g}/100\text{ g}$ )*		Źródło
wypas pastwiskowy	żywienie intensywne	
74	17	Insani i in. 2008
45	6	Descalzo i in. 2005
16	1	Yang i in. 2002
43,88	28,53	Duckett i in. 2009

\* wszystkie wartości pomiędzy systemami żywienia różniły się istotnie przy  $p < 0,05$

Bardzo ważną, synergistyczną z tokoferolami rolę w systemie antyoksydacyjnym mięsa pełnią karotenoidy – prekursor retinolu (witaminy A). Bydło żywione w systemie pastwiskowym zwykle otrzymuje odpowiednią ilość witaminy A ze względu na wysoki poziom karotenoidów (zwłaszcza  $\beta$ -karotenu) w trawie. Jednakże zawartość karotenoidów w zielonkach uzależniona jest od wielu czynników, w tym m.in. gatunku i odmiany roślin występujących w runi,

fazy wzrostu trawy, stosowanych nawozów czy pestycydów, jak również intensywności promieniowania słonecznego. Zbiór i konserwacja zielonek (np. kiszonki, sianokiszonki czy siano) negatywnie wpływają na zawartość karotenoidów w paszy, a poziom ich degradacji może sięgać nawet 80% [Chauveau-Duriot i in. 2005, Dunne i in. 2009].

W kilku badaniach analizowano wpływ żywienia zwierząt na zawartość  $\beta$ -karotenu w mięsie wołowym. Wykazano, że mięso bydła korzystającego z pastwiska zawierało od 1,5 do 16 razy więcej  $\beta$ -karotenu niż zwierząt żywionych intensywnie (tab. 2).

### **Wpływ żywienia bydła na zawartość składników mineralnych w wołowinie**

Wołowina ze względu na wysoką koncentrację i formę, w jakiej obecne są w niej składniki mineralne (głównie żelazo, cynk oraz selen), uważana jest za istotne ich źródło w żywieniu człowieka [López-Alonso 2012]. Żelazo (Fe) w mięsie występuje przede wszystkim w przyswajalnej postaci hemowej (w mioglobinie i hemoglobinie). Jego absorpcja z mięsa jest niemal dwukrotnie wyższa niż z roślin i wynosi od 20% do 30%. Podobnie absorpcja cynku (Zn) z diety bogatej w białko zwierzęce jest większa niż z żywności pochodzenia roślinnego. Ramos i in. [2012] wykazali, że biodostępność pierwiastków śladowych z mięsa wołowego zawierała się w przedziale od 75% do 91% dla selenu (Se), od 30% do 45% dla miedzi (Cu), od 40% do 68% dla cynku (Zn), od 55% do 95% dla manganu (Mn) oraz od 60% do 70% dla żelaza (Fe).

Na zawartość składników mineralnych w mięsie wołowym wpływa wiele czynników genetycznych, fizjologicznych i środowiskowych. Do najważniejszych należą m.in. rasa, wiek, rodzaj mięśnia, żywienie i system utrzymania, położenie geograficzne (miejsce chowu) oraz sposób przetwarzania surowca [Ramos i in. 2012, Domaradzki i in. 2016]. Spośród czynników środowiskowych największe znaczenie wydaje się mieć ilość i jakość skarmianej paszy. Zawartość składników mineralnych w paszach determinowana jest m.in. rodzajem gleby, na której uprawiane były rośliny, jej wilgotnością i odczynem, zasobnością w składniki mineralne, nawożeniem, warunkami pogodowymi, gatunkami roślin czy stopniem ich dojrzałości [López-Alonso 2012]. Duża liczba czynników, zmienny poziom, a także sezonowe uwarunkowania zawartości składników mineralnych (zwłaszcza mikroelementów) w paszach sprawiają, że często są one suplementowane w diecie zwierząt w celu zapobiegania ich niedoborom [Rooke i in. 2010, López-Alonso 2012]. Pereira i in. [2018] zauważają, że w intensywnych systemach żywienia bydła może niekiedy dochodzić do nadmiernej suplementacji, zwłaszcza miedzią i cynkiem, co może stwarzać potencjalne zagrożenie dla zdrowia zwierząt.

Najczęściej wykorzystywanymi w żywieniu bydła dodatkami mineralnymi mającymi na celu poprawę zdrowotności zwierząt, jak również poprawę wartości odżywczej pozyskiwanego od nich mięsa są mikroelementy, takie jak selen, jod, chrom, cynk i miedź. Jednak modyfikacje żywieniowe ukierunkowane na wzrost ich stężenia w tkance mięśniowej są bardzo często utrudnione [Webb 2006]. Warto bowiem pamiętać o antagonistycznym oddziaływaniu niektórych składników mineralnych w zakresie ich biodostępności i poziomu wchłaniania. Przykładowo, u przeżuwaczy przyswajanie Cu z paszy jest szczególnie ograniczone w obecności nadmiaru molibdenu, siarki, a w mniejszym stopniu również żelaza. Wysoka koncentracja Ca i Fe w paszy hamuje pobieranie Zn. Przy wysokiej zawartości Zn w dawkach pokarmowych wymagane są również wyższe dawki Cu. Z kolei zwierzęta poddane czynnikom stresogennym mają zwiększone zapotrzebowanie na Cu i Zn [López-Alonso 2012]. Organizmy zwierząt wytworzyły fizjologiczne mechanizmy utrzymania homeostazy mineralnej, kontrolujące wchłanianie, wydalanie, akumulację, czy uwalnianie rezerw składników mineralnych, ponieważ niektóre z pierwiastków w nadmiernych ilościach mogą stać się toksyczne dla metabolizmu komórkowego [López-Alonso 2012]. Żywieniowe modyfikowanie zawartości w mięsie takich pierwiastków śladowych, jak Fe, Zn i Cu, dla których ważnymi mechanizmami kontroli w organizmie bydła jest wchłanianie w jelicie i magazynowanie w wątrobie, jest bardzo utrudnione i w dużej mierze niezależne od poziomu suplementacji. Istotne zwiększenie ich zawartości uzyskiwane jest jedynie przy intensywnej suplementacji wielokrotnie przekraczającej górne bezpieczne limity ustalone dla bydła. Z kolei wchłanianie selenu (Se), jodu (I) czy kobaltu (Co) z przewodu pokarmowego zwierząt odbywa się z dużą szybkością, a kontrola homeostatyczna, odbywająca się głównie za pośrednictwem wydalania z moczem, następuje dopiero po ich absorpcji. Mechanizm ten znacznie ułatwia możliwość wpływania na ich zawartość w tkankach zwierzęcych czynnikami żywieniowymi [Rooke i in. 2010, López-Alonso 2012]. W opinii Garcíi-Vaquera i in. [2011] mięśnie, w przeciwieństwie do wątroby i nerek, nie mają zdolności magazynowania pierwiastków śladowych, dlatego też przy odpowiedniej podaży z paszą stężenia mikroelementów w tkance mięśniowej są w głównej mierze uzależnione od indywidualnego metabolizmu mięśni. Potwierdzeniem wyżej przedstawionych tez jest doniesienie, jakie przedstawili Juárez i in. [2021], którzy wskazują że w większości badań, w których wykazano znaczący wpływ żywienia bydła na zwiększenie zawartości żelaza w mięsie stosowano jego ekstremalnie wysokie stężenia, przekraczające dopuszczalne w diecie zwierząt górne limity.

Większość badań wykazała brak lub niewielki wpływ suplementacji Zn na jego zawartość w mięśniach bydła [Juárez i in. 2021]. Kessler i in. [2003], wykorzystując w żywieniu bydła opasowego 3 różne formy cynku (organiczna – proteinian i kompleks polisacharydowy oraz nieorganiczna – tlenek) w ilości 45 mg/kg s.m., nie wykazali (w odniesieniu do grupy kontrolnej) istotnego wpływu żadnej z form na jego koncentrację zarówno w mięśniach, jak i wątrobie. Suplementacja nie wpływała również istotnie na przyrosty dobowe oraz inne oceniane parametry jakościowe tusz oraz mięsa, m.in. zawartość tłuszczu śród-

mięśniowego, barwę, wodochłonność i kruchość. Podobne zależności obserwowano również w przypadku suplementacji chromem dawek pokarmowych wołców [Weeb 2006]. Van den Top [2005] podaje, że na 16 analizowanych doświadczeń z wykorzystaniem różnych form Zn (organicznych vs. nieorganicznych) w żywieniu bydła tylko w 2 wykazano istotne różnice w jego biodostępności. Jednakże w badaniach tych przekroczone ponad 3-krotnie dozwolone w UE poziomy suplementacji cynku u bydła.

Selen wraz z witaminą E wykazują synergistyczne działanie, chroniąc tkanki przed peroksydacją oraz zapewniając prawidłowe funkcjonowanie układu odpornościowego. Zapotrzebowanie na selen u bydła związane jest z poziomem witaminy E w diecie, dlatego też w przypadku skarmiania pasz ubogich w  $\alpha$ -tokoferol podaż selenu powinna być zwiększona i *vice versa*. Suplementacja selenem jest często wykorzystywaną w żywieniu zwierząt gospodarskich praktyką, co ma na celu zaspokojenie ich wymagań żywieniowych, zwłaszcza na obszarach o niskim stężeniu Se w glebie. W przeciwieństwie do większości pierwiastków śladowych istnieje bowiem bezpośredni związek między poziomem selenu w glebie, roślinach (paszy), a zawartością w tkankach zwierząt [Mehdi i Dufrasne 2016]. Ramos i in. [2012] podają, że o zawartości Se w mięsie decyduje przede wszystkim jego pochodzenie geograficzne, co związane jest z obecnością tego pierwiastka w glebie. Wołowina pozyskana w Urugwaju jest 12-krotnie, w USA 4-krotnie, a w Australii 1,5 raza zasobniejsza w Se niż wołowina z Europy [Williamson i in. 2005, Ramos i in. 2012]. Zasadniczo, chociaż dla selenu pobieranego z paszy nie wykazano mechanizmu regulacji homeostaticznej, jego biodostępność u przeżuwaczy jest kilkakrotnie niższa niż u zwierząt monogastrycznych, co uwarunkowane jest zachodzącymi w żwaczu przemianami. Wykazano, że efektywniejszym sposobem zwiększenia jego zawartości w mięsie wołowym jest suplementacja bydła organicznymi związkami selenu, np. drożdżami wzbogaconymi Se czy selenometioniną, niż formami nieorganicznymi [Mehdi i Dufrasne 2016]. Skřivanová i in. [2007] wykazali, że mięso cieląt suplementowanych drożdżami wzbogaconymi w Se zawierało 2-krotnie więcej tego pierwiastka w porównaniu z grupą kontrolną (0,21 vs. 0,43 mg/kg). Efekt ten dodatkowo został wzmocniony (0,48 mg/kg) obecnością witaminy E w paszy zwierząt. Zarówno suplementacja wyłączna Se, jak i z dodatkiem witaminy E, korzystnie wpłynęła na aktywność peroksydazy glutationowej w mięsie oraz jego stabilność oksydacyjną.

Chociaż wołowina nie jest uważana za znaczące źródło jodu w żywieniu człowieka (100 g zwykle dostarcza poniżej 5% dziennego zapotrzebowania), to Meyer i in. [2008] wykazali, że istnieje żywieniowa możliwość podniesienia zawartości tego pierwiastka w mięsie wołowym. Suplementując buhajki różnymi dawkami jodu 0,79 vs. 3,52 vs. 8,31 mg/dzień/kg s.m. paszy, obserwowali wzrost zawartości tego pierwiastka w *m. longissimus* i *m. gluteus medius*, odpowiednio z 1,6 i 3,2  $\mu\text{g}/100\text{ g}$  w pierwszej grupie, poprzez 4,5 i 8,3  $\mu\text{g}/100\text{ g}$  w drugiej, do 8,0 i 14,7  $\mu\text{g}/100\text{ g}$  w grupie o najwyższej podaży jodu z paszy.

Dostępne badania z zakresu wpływu systemu żywienia (jego intensywności i rodzaju wykorzystywanych w opasie pasz) na zawartość składników mineralnych w mięsie wołowym nie są jednoznaczne. Momot i in. [2016] nie wykazali wpływu intensywności żywienia buhajków na zawartość zarówno makro- (K, Na, Mg), jak i mikroelementów (Zn, Fe) w mięsie wołowym. Mahecha i in. [2009], oceniając zawartość mikroelementów (Fe, Zn, Cu, Se) w mięsie buhajków żywionych 3 zróżnicowanymi pod względem energetycznym dawkami pokarmowymi, jedynie w przypadku Se wykazali jego istotnie wyższą koncentrację w mięsie bydła opasanego dawką o najwyższej wartości energetycznej (kiszonka z kukurydzy i traw + koncentrat sojowy). Niektórzy jednak wskazują na istotne różnice w zawartości związków mineralnych w mięsie w zależności od systemu żywienia bydła. Łozicki i in. [2012] wykazali wyższą koncentrację Na, Fe i Zn w mięsie zwierząt wypasanych na pastwisku, pomimo że buhajki żywione intensywnie (kiszonka z kukurydzy + pasza treściwa) otrzymywały 2% dodatek mineralno-witaminowy (tab. 3). Williams i in. [1983] podają, że wołowina z systemu pastwiskowego zawierała więcej Mg, K, P i Zn niż z systemu intensywnego. Podobnie Duckett i in. [2009], porównując 2 systemy żywienia (pastwiskowy vs. intensywny), wykazali wyższą zawartość wszystkich ocenianych składników mineralnych w *m. longissimus* bydła utrzymywanego na pastwisku, aczkolwiek istotne różnice stwierdzili jedynie w przypadku makroelementów (Ca, Mg, K) (tab. 3).

Holló i in. [2007] w mięsie bydła opasanego ekstensywnie (zielonka pastwiskowa + kiszonka z traw) wykazali wyższą zawartość P i Fe, z kolei poziom Na i Cu był wyższy w mięsie zwierząt żywionych intensywnie (kiszonka z kukurydzy, siano i koncentrat) (tab. 3). Mullis i in. [2003] podają, że bydło żywione paszami z użytków zielonych narażone jest na nadmierną podaż żelaza, bowiem takie komponenty diety, jak woda, trawa i często również gleba, są zasobne w ten pierwiastek. Wysoki poziom żelaza w dawce pokarmowej znacząco wpływa z kolei na obniżenie poziomu miedzi w organizmie zwierząt.

Schmidt i in. [2013], oceniając wpływ 5 różnych rodzajów pasz z roślin zielonych na zawartość składników mineralnych w mięsie wołców, istotnie wyższą zawartość Mg, Na i Zn stwierdzili w wołowinie pozyskanej od zwierząt wypasanych na trawie bermudzkiej. Jain i in. [2020] podają, że mięso bydła wypasanego na pastwisku wiosną zawiera więcej takich makroelementów, jak Mg i K, oraz mikroelementów, jak Fe, Zn i Se, natomiast w sezonie jesiennym jest zasobniejsze w P oraz Na. Poziom składników mineralnych w mięsie bydła utrzymywanego na pastwisku w dużym stopniu zależy od rodzaju i jakości skarmianej w trakcie wypasu paszy [Duckett i in. 2009]. Generalnie obserwuje się tendencję do wyższej kumulacji składników mineralnych w zielonce pastwiskowej w miesiącach wiosennych niż w okresie późnego lata lub jesieni [Jain i in. 2020].

Tabela 3. Zawartość wybranych składników mineralnych (mg/100 g ś.m.) w mięsie wołowym w zależności od systemu żywienia bydła

Mięsień	Składnik mineralny	Żywienie kiszonką z kukurydzy i koncentratem	Wypas pastwiskowy	Źródło
<i>M. longissimus thoracis</i>	wapń	6,13	6,35	Łozicki i in. 2012
	fosfor	302,71	286,38	
	magnez	40,89	37,20	
	sód	51,09*	58,66*	
	potas	391,35	374,27	
	żelazo	2,97*	3,71*	
	cynk	4,56*	5,49*	
	miedź	0,12	0,11	
<i>M. longissimus</i>	wapń	4,03	4,13	Hollo i in. 2007
	fosfor	175,17*	195,08*	
	magnez	19,24	20,32	
	sód	68,17*	56,74*	
	potas	324,59	334,25	
	żelazo	1,45*	1,69*	
	cynk	3,51	3,42	
	miedź	0,14*	0,09*	
<i>M. longissimus</i>	wapń	5,35*	7,17*	Duckett i in. 2009
	magnez	20,74*	21,08*	
	sód	165,16	172,20	
	potas	293,12*	306,56*	
	żelazo	1,62	1,70	
	cynk	4,01	4,10	

\*  $p < 0,05$

Z punktu widzenia żywienia człowieka i właściwego funkcjonowania jego organizmu za najważniejsze pierwiastki śladowe w mięsie należy uznać Fe, Zn, Se, Cu oraz I. Zasadniczo ich zawartość w mięsie zmienia się w zależności od diety zwierząt, aczkolwiek modyfikacje żywieniowe w tym zakresie są niezwykle trudne i często niejednoznaczne. Organizm zwierzęcy rozwinął liczne mechanizmy utrzymania homeostazy składników mineralnych, a najlepsze efekty suplementacji widoczne są w przypadku niedoborów składników mineralnych. Metodami żywieniowymi stosunkowo łatwo można wpływać na poziom Se, I i Co w mięsie zwierząt, zdecydowanie trudniejsza jest modyfikacja zawartości Fe, Zn oraz Cu.



## Wpływ żywienia bydła na jakość sensoryczną wołowiny

Obiektywna ocena jakości mięsa wymaga przeprowadzenia wielu analiz fizykochemicznych i sensorycznych (np. składu chemicznego, wartości odżywczej czy przydatności kulinarnej), które w świeżym surowcu zasadniczo nie mogą być prawidłowo oszacowane przez konsumenta. Klient przy wyborze i zakupie mięsa kieruje się zatem własną subiektywną oceną, biorąc pod uwagę takie parametry, jak: barwa, zapach, wyciek naturalny, marmurkowatość, a także cena [Zymon 2012].

Jedną z najważniejszych cech jakościowych w doustnej ocenie konsumenciej wołowiny jest smakowitość, na którą składają się takie elementy, jak smak i zapach. Mięso wszystkich gatunków zwierząt jest neutralne pod względem smakowitości, gdyż nie zawiera naturalnych substancji smakowo-zapachowych, a jedynie ich prekursorów. Związki te nie wykazują cech smakowo-zapachowych, lecz podczas obróbki termicznej wchodzi we wzajemne reakcje chemiczne, w wyniku których powstają nowe związki nadające mięsu zróżnicowane cechy smakowo-zapachowe. Głównymi prekursorami cech smakowo-zapachowych mięsa są aminokwasy, cukry redukujące oraz kwasy tłuszczowe. Z nich, w wyniku termicznej obróbki mięsa, powstają właściwe cechy smakowitości [Zymon 2012, Domaradzki i in. 2020]. Innym niezwykle ważnym w ocenie sensorycznej parametrem jakościowym mięsa jest kruchość [Carnagey i in. 2008, Kołczak 2008]. Wykazano, że spośród wielu cech organoleptycznych wołowiny polscy konsumenci za najważniejsze uznają smak i zapach (40%), następnie wygląd ogólny (30%), a w dalszej kolejności kruchość (20%) i soczystość (10%) [Hocquette i in. 2014].

Jakkolwiek cechy organoleptyczne mięsa wołowego determinowane są licznymi czynnikami genetycznymi i fizjologicznymi (np. rasa, wiek, płeć, kastracja), a także przetwórczymi (pH, temperatura, dojrzewanie, sposób obróbki termicznej itd.), to sposób żywienia zwierząt uznawany jest za jeden z istotnych elementów wpływających na smakowitość, kruchość czy barwę surowca. Generalnie przyjmuje się, że zwiększenie intensywności skracca czas opasu bydła i wpływa na wzrost zawartości tłuszczu śródmięśniowego (marmurkowatość), który korzystnie oddziałuje na cechy jakościowe mięsa, głównie aromat, barwę i soczystość [Sadowska i in. 2016]. Frank i in. [2016] podkreślają szczególnie znacznie tłuszczu śródmięśniowego w kształtowaniu cech sensorycznych mięsa wołowego. Wykazali, że kruchość, soczystość oraz pożądane wyróżniki smakowo-zapachowe (słodycz, posmak tłuszczu mlecznego i grillowanej wołowiny) zwiększały się wraz ze wzrostem poziomu marmurkowatości mięsa, mniej wyczuwalne stawały się natomiast wyróżniki postrzegane negatywnie, jak smak kwaśny i cierpki. Wyniki analizy sensorycznej potwierdziły pomiary instrumentalne, bowiem wraz ze wzrostem zawartości tłuszczu śródmięśniowego zwiększał się poziom lotnych substancji aromatycznych oraz nielotnych związków smakowo-zapachowych.

Wołowina pozyskiwana od bydła utrzymywanego w intensywnych systemach produkcji z dużą ilością pasz treściwych jest bardziej krucha i smakowita w porównaniu z mięsem produkowanym w systemie wolnego opasu. Związane jest to z wyższą zawartością tłuszczu śródmięśniowego oraz mniejszym udziałem tkanki łącznej i/lub wzrostem ilości frakcji rozpuszczalnej kolagenu w mięsie zwierząt żywionych intensywnie [Sadowska i in. 2016]. Barros i in. [2010] wykazali, że wraz ze wzrostem wartości energetycznej diety bydła wypasanego na pastwisku pozyskiwane jest mięso o wyższej zawartości tłuszczu oraz wyższej rozpuszczalności kolagenu. Szybki przyrost młodych zwierząt zapewnia niższy udział i stopień usieciowienia kolagenu, co przyczynia się do zwiększenia kruchości mięsa [Lawrie 2006].

Wykazano, że mięso pozyskane od bydła utrzymywanego na pastwisku charakteryzuje się wyższą intensywnością smaku i zawartością niskocząsteczkowych nienasyconych aldehydów pochodzących z utleniania długołańcuchowych PUFA w porównaniu z mięsem bydła żywionego paszami treściwymi [Scollan i in. 2006]. Z jednej strony wołowina pozyskiwana od bydła utrzymywanego w systemie pastwiskowym zawiera więcej PUFA, co podczas przechowywania stwarza wysokie ryzyko utleniania się lipidów, prowadząc do powstawania obcych posmaków. Z drugiej strony, mięso takie charakteryzuje się wysoką zawartością witaminy E, która zwiększa stabilność oksydacyjną mięsa, poprawiając tym samym jego cechy jakościowe, m.in. barwę, smak, teksturę oraz wartość odżywczą. Pozwala to również na wydłużenie okresu przydatności do spożycia takiego surowca.

W badaniach Tansawat i in. [2013] wykazano, że wołowina z systemu pastwiskowego zawiera więcej prekursorów odpowiedzialnych za posmak oborowy, dziczyzny i trawiasty, natomiast z systemu intensywnego – za mięsny i soczysty. Maughan i in. [2012] stwierdzili, że konsumenci bardziej preferowali steki pochodzące od bydła żywionego paszami treściwymi (7,05 pkt w 9-stopniowej skali) niż steki pozyskane od bydła żywionego zieloną pastwiskową (6,08 pkt). Nuty smakowe, takie jak oborowy, dziczyzny i trawiasty, były charakterystyczne dla wołowiny pochodzącej od zwierząt wypasanych na pastwisku i zostały sklasyfikowane jako negatywne wyróżniki sensoryczne mięsa. Pasze objętościowe wykorzystywane w żywieniu bydła często są przyczyną wyczuwalnego w mięsie posmaku trawiastego, co jest związane z naturalnie wysoką zawartością kwasu linolenowego w zielonkach [Sadowska i in. 2016]. Daley i in. [2010] podają, że wykwalifikowany panel oceniający, tj. osoby przeszkolone w zakresie analizy sensorycznej, wyżej oceniają smakowitość i kruchość wołowiny pochodzącej z opasu paszą treściwą niż wołowiny pozyskanej od bydła wypasanego na pastwisku. Podobnie Priolo i in. [2001] wskazują, że pod względem smakowitości bardziej akceptowalne jest mięso wołowe pochodzące od zwierząt żywionych intensywnie z dużym udziałem pasz treściwych. Z kolei Realini i in. [2013] są odmiennego zdania, wykazali bowiem, że konsumenci w UE wyżej oceniają wołowinę pozyskaną od zwierząt żywionych zieloną pastwiskową. Podobnie Resconi i in. [2010] wykazali, że mięso wołowe żywionych przez cały okres opasu wyłącznie śrutami zbożowymi charakteryzo-

wało się niższą intensywnością smaku i zapachu wołowego, wyższą intensywnością zapachu obcego, jak również było mniej kruche w porównaniu z mięsem pozyskanym od zwierząt wypasanych na pastwisku. Generalnie oceniane cechy sensoryczne mięsa wołowego ulegały pogorszeniu wraz ze wzrostem wartości energetycznej diety walców. Z kolei Sami i in. [2004] nie stwierdzili istotnych różnic w smakowości i soczystości mięsa wołowego w zależności od systemu żywienia zwierząt (ekstensywny vs. intensywny). Podobnie French i in. [2000], oceniając wpływ 6 sposobów żywienia walców z różnym udziałem wypasu pastwiskowego i paszy treściwej na jakość mięsa wołowego, nie wykazali istotnych różnic dla instrumentalnie ocenianej barwy oraz wyróżników sensorycznych mięsa, tj. smakowości, soczystości, kruchości czy ogólnej akceptowalności. Frank i in. [2016] podają, że udział tłuszczu śródmięśniowego powyżej 5% niweluje różnice w wyróżnikach sensorycznych pomiędzy mięsem pozyskiwanym od bydła żywionego paszami zbożowymi a zielonką pastwiskową. Nuernberg i in. [2005] na 17 ocenianych wyróżników sensorycznych mięsa jedynie w przypadku 2 stwierdzili statystycznie istotne różnice. Wołowina z systemu pastwiskowego odznaczała się większym natężeniem smaku rybiego (4,3 vs. 1,7 pkt w 100-punktowej skali) oraz była mniej preferowana (12,2 vs. 16,2) niż wołowina pozyskana od bydła żywionego intensywnie. Webb i Erasmus [2013] podają, że system żywienia istotnie wpływa na kruchość wołowiny, przy czym zwykle bardziej kruche jest mięso bydła żywionego paszami treściwymi niż pastwiskowo, aczkolwiek można to wiązać z faktem, iż utrzymywane na pastwisku bydło ubijane jest w starszym wieku. Warren i in. [2008] wykazali jednak, że walcze żywione kiszoną z trawy dobrej jakości, miały zbliżone tempo wzrostu do zwierząt żywionych paszami treściwymi. Dodatkowo, niezależnie od wieku uboju (14, 21, 24 miesiące) i systemu żywienia, kruchość mięsa była zbliżona.

Według Rafalskiej i in. [2014] jednym z żywieniowych sposobów poprawy kruchości mięsa wołowego przed ubojem może być podawanie zwierzętom w dawkach pokarmowych witaminy D<sub>3</sub> lub jej aktywnych metabolitów, tj. kalcydiolu lub kalcytriolu, które powodują zwiększenie w osoczu krwi stężenia jonów wapnia biorących czynny udział w aktywacji enzymów proteolitycznych z grupy kalpain. Kalpains *post mortem* uczestniczą bowiem w degradacji białek miofibrylarnych, co wpływa na rozluźnienie struktury mięśni, a tym samym na zwiększenie kruchości mięsa.

Kruk i in. [2008] wykazali, że niski poziom witaminy A lub/i  $\beta$ -karotenu w dawkach pokarmowych bydła intensywnie opasanego (z 75% udziałem ziarna zbóż w dawce) powoduje podwyższenie zawartości tłuszczu śródmięśniowego, bez negatywnego wpływu na wartość rzeźną tusz i inne parametry jakościowe mięsa (m.in. kruchość, barwę, pH). Mięso walców, które nie otrzymywały dodatku witaminy A, odznaczało się o 19% wyższą marmurkowatością oraz o 35% wyższą zawartością tłuszczu śródmięśniowego (13,0% vs. 9,6%) w porównaniu z grupą suplementowaną witaminą A (60 000 IU palmitynianu retinyłu/100 kg/dzień). Podobnie Oka i in. [1998] wykazali, że dodatek witaminy A w żywieniu młodych walców Wagyu istotnie zmniejszył marmurkowatość

pozyskiwanego od nich mięsa (z 9,8 do 7,8 pkt). Z kolei Kawachi [2006] podaje, że suplementacja dawki pokarmowej bydła opasowego witaminą C wpływa na wyższą marmurkowatość mięsa. Zwiększona lipogeneza jest wynikiem korzystnego wpływu witaminy C na różnicowanie adipocytów.

Istotnym wyróżnikiem w ocenie jakościowej mięsa wołowego jest barwa, warunkowana ilością i formą chemiczną głównego barwnika hemowego mięśni – mioglobiny. Rasa i wiek zwierząt, a także ich aktywność fizyczna są głównymi czynnikami wpływającymi na poziom mioglobiny w mięśniach szkieletowych bydła. Wraz z wiekiem zwierząt poziom mioglobiny w mięsie wzrasta, co jest prawdopodobnie spowodowane zmniejszeniem aktywności enzymów oksydacyjnych [Hocquette i in. 1998]. Jej zawartość może być również modyfikowana składem dawki pokarmowej. Wyraźniejsze zabarwienie i bardziej intensywną barwę mięsa obserwowano przy żywieniu pastwiskowym niż przy skarmianiu mieszankami z dużym udziałem zbóż [Vestergaard i in. 2000]. Mięso zwierząt opasanych ekstensywnie ma barwę ciemniejszą niż z opasu intensywnego i półintensywnego [Keane i Allen 1998]. Priolo i in. [2001] podają, że instrumentalnie określana jasność  $L^*$  mięsa z systemu pastwiskowego jest ok. 5% niższa w porównaniu z wołowiną produkowaną w systemie intensywnym, a odsetek ten jest jeszcze wyższy (10%) w przypadku wizualnej oceny mięsa. Potwierdzili to Cozzi i in. [2010], którzy wykazali, że mięso bydła wypasanego na pastwisku było istotnie ciemniejsze ( $L^* = 33,0$  vs.  $35,8$ ;  $P < 0,05$ ), bardziej czerwone ( $a^* = 15,4$  vs.  $13,7$ ;  $P < 0,05$ ) i żółte ( $b^* = 15,6$  vs.  $14,6$ ;  $P < 0,05$ ), jak również mniej kruche (siła cięcia =  $3,92$  vs.  $3,24$  kg/cm<sup>2</sup>;  $P < 0,05$ ) w porównaniu z mięsem zwierząt żywionych intensywnie kiszoną kukurydzą i ziarnem zbóż. Większa aktywność lokomocyjna zwierząt wypasanych na pastwisku skutkuje wyższą zawartością mioglobiny w mięśniach, co bezpośrednio przekłada się na ciemniejszą i bardziej intensywną barwę mięśni.

Wpływ na barwę mięsa w pewnym stopniu może wywierać również temperatura środowiska, bowiem od zwierząt utrzymywanych w niskich temperaturach pozyskiwany jest surowiec o ciemniejszym zabarwieniu tkanki mięśniowej [Zymon 2012]. Barwa mięsa znacząco uzależniona jest od procesu beztlenowej glikolizy zachodzącej *post mortem* podczas konwersacji mięśni w mięso [Webb 2006]. Tempo, w jakim obniża się pH mięśni, ma zasadnicze znaczenie dla uzyskania pożądanej barwy mięsa. Żywienie wpływa na potencjał glikolityczny mięśni i w konsekwencji na prawidłową przemianę mięśni w mięso oraz na jego czerwone zabarwienie. Stres, głódówka lub niedożywienie bydła powodują wyczerpanie rezerw glikogenu mięśniowego, w związku z czym nie dochodzi do właściwego zakwaszenia (spadku pH) mięśni, czego skutkiem jest tzw. mięso DFD (mięso ciemne, twarde i suche). Priolo i in. [2001] wskazują, że jakkolwiek mięso zwierząt utrzymywanych na pastwisku (ekstensywnie) zwykle charakteryzuje się prawidłowym pH końcowym, to jest ono wyższe niż u bydła żywionego intensywnie. Ponadto zwierzęta utrzymywane w systemie ekstensywnym są bardziej podatne na stres, a mięso wykazuje niższy potencjał glikolityczny. Powszechność występowania wady DFD u bydła można znacznie ograniczyć poprzez poprawę zarządzania na etapie załadunku i transportu zwierząt,

a także opasu końcowego dzięki dobrze zbilansowanym dawkom pokarmowym i stosowaniu suplementów paszowych, takich jak przeciwutleniacze.

Reasumując, jakkolwiek wpływ żywienia bydła na jakość sensoryczną wołowiny nie jest jednoznaczny, to część badań wskazuje na możliwość poprawy smakowitości, kruchości i barwy mięsa pozyskanego od zwierząt żywionych intensywnie (paszami treściwymi). Generalnie, skoncentrowane pod względem energetycznym dawki pokarmowe, w porównaniu z żywieniem pastwiskowym, warunkują szybsze i bardziej równomierne przyrosty zwierząt, co również przekłada się na bardziej wyrównaną wartość rzeźną tusz i jakość pozyskiwanego mięsa.

## **Podsumowanie**

Końcowa jakość mięsa wołowego jest uzależniona zarówno od czynników genetycznych i środowiskowych, jak i wzajemnych interakcji. Biorąc pod uwagę coraz lepsze zrozumienie związku między dietą i określonymi składnikami żywności a zdrowiem, jak również ich wpływ na funkcje fizjologiczne organizmu człowieka, wzrasta również zainteresowanie jakością żywności i możliwością kształtowania cech funkcjonalnych żywności pochodzenia zwierzęcego, w tym mięsa. Przedstawione w opracowaniu wyniki wielu badań wskazują na znaczne możliwości w tym zakresie. Stosowane w żywieniu bydła modyfikacje mają przede wszystkim na celu poprawę i podniesienie wartości odżywczej mięsa. Należy jednak pamiętać, iż mogą one negatywnie wpływać na niezwykle istotne dla akceptacji konsumenckiej właściwości sensoryczne wołowiny, takie jak barwa, smakowitość, soczystość czy kruchość.

Żywieniowe modyfikacje cech jakościowych wołowiny wydają się prostsze i mniej kosztowne w porównaniu z tak zaawansowanymi rozwiązaniami, jak nowoczesne strategie hodowlane, metody biotechnologiczne czy nowe technologie poubojowe. Jednak wykorzystanie strategii żywieniowych na większą skalę w praktyce będzie możliwe tylko wówczas, kiedy okażą się ekonomicznie uzasadnione, nie wpłyną negatywnie na przydatność technologiczną i ocenianą przez konsumentów jakość mięsa, jak również uwzględnione zostaną inne aktualnie bardzo ważne aspekty związane m.in. z ochroną środowiska czy etyką produkcji.

## **Piśmiennictwo**

Barros A.I.R.N.A., Silva A.P., Gonçalves B., Nunes F.M., 2010. A fast, simple and reliable hydrophilic interaction liquid chromatography method for the determination of ascorbic and isoascorbic acids. *Anal. Bioanal. Chem.* 396, 1863–1864, <https://doi.org/10.1007/s00216-009-3414-4>

- Carnagey K.M., Huff-Loneragan E.J., Trenkle A.H., Wertz-Lutz A.E., Horst R.L., Deitz D.C., 2008. Use of 25-hydroxyvitamin D<sub>3</sub> and vitamin E to improve tenderness of beef from the longissimus dorsi of heifers. *J. Anim. Sci.* 86, 1649–1657, <https://doi.org/10.2527/jas.2007-0502>
- Castillo C., Abuelo A., Benedito J.L., Hernández J., 2015. Nutritional and therapeutic use of capsaicin in veterinary medicine. W: B. Gillian (red.), *Capsaicin: food sources, medical uses and health implications*. Nova Publishers, New York, 17–52.
- Castillo C., Pereira V., Abuelo A., Hernández J., 2013. Effect of supplementation with antioxidants on the quality of bovine milk and meat production. *Sci. World J.* 8, 1–9, <https://doi.org/10.1155/2013/616098>
- Chauveau-Duriot B., Thomas D., Portelli J., Doreau M., 2005. Carotenoids content in forages: variation during conservation. *Ren. Rec. Rumi.* 12, 117.
- Combs G.F. Jr., 1998. *The vitamins. Fundamental aspects in nutrition and health*. 2nd ed. Academic Press, San Diego, CA.
- Cozzi G., Brscic M., Da Ronch F., Boukha A., Tenti S., Gottardo F., 2010. Comparison of two feeding finishing treatments on production and quality of organic beef. *Ital. J. Ani. Sci.* 9, 4, 77, <https://doi.org/10.4081/ijas.2010.e77>
- Daley C. A., Abbott A., Doyle P. S., Nader G. A., Larson S., 2010. A review of fatty acid profiles and antioxidant content in grass-fed and grain fed beef. *Nut. J.* 9, 1, 1–12, <https://doi.org/10.1186/1475-2891-9-10>
- De la Fuente J., Diaz M.T., Alvarez I., Oliver M.A. Furnols M.F., Sañudo C., Caneque V., 2009. Fatty acid and vitamin E composition of intramuscular fat in cattle reared in different production systems. *Meat Sci.* 82, 3, 331–337, <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2009.02.002>
- Descalzo A.M., Insani E.M., Biolatto A., Sancho A.M., García P.T., Pensel N.A., Josifovich J.A., 2005. Influence of pasture or grain-based diets supplemented with vitamin E on antioxidant/oxidative balance of Argentine beef. *Meat Sci.* 70, 1, 35–44, <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2004.11.018>
- Descalzo A.M., Sancho A.M., 2008. A review of natural antioxidants and their effects on oxidative status, odor and quality of fresh beef in Argentina. *Meat Sci.* 79, 423–436, <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2007.12.006>
- Domaradzki P., Florek M., Litwińczuk A., 2016. Czynniki kształtujące jakość mięsa wołowego. *Wiad. Zoot.* 2, 160–170.
- Domaradzki P., Florek M., Litwińczuk Z., 2020. Kształtowanie profilu smakowo-zapachowego mięsa wołowego w procesie dojrzewania na sucho. *Żywn. Nauk. Technol. J.* 27, 1, 122, 5–30, <https://doi.org/10.15193/zntj/2020/122/319>
- Duckett S.K., Neel J.P.S., Fontenot J.P., Clapham W.M., 2009. Effects of winter stocker growth rate and finishing system on: III. Tissue proximate, fatty acid, vitamin and cholesterol content. *J. Anim. Sci.* 87, 2961–2970, <https://doi.org/10.2527/jas.2009-1850>
- Dunne P.G., Monahan F.J., O'Mara F.P., Moloney A.P., 2009. Colour of bovine subcutaneous adipose tissue: A review of contributory factors, associations with carcass and meat quality and its potential utility in authentication of dietary history. *Meat Sci.* 81, 1, 28–45, <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2008.06.013>
- Frank D., Ball A., Hughes J., Krishnamurthy R., Piyasiri U., Stark J., Watkins P. Warner R., 2016. Sensory and flavor chemistry characteristics of Australian beef: Influence of intramuscular fat, feed and breed. *J. Agric. Food Chem.* 64, 4299–4311, <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.6b00160>
- French P., Stanton C., Lawless F., O'Riordan E.G., Monahan F.J., Caffrey P.J., Moloney A.P., 2000. Fatty acid composition, including conjugated linoleic acid, of intramuscular fat from steers offered grazed grass, grass silage, or concentrate-based diets. *J. Anim. Sci.* 78, 2849–2855, <https://doi.org/10.2527/2000.78112849x>
- García-Vaquero M., Miranda M., Benedito J.L., Blanco-Penedo I., López-Alonso M., 2011. Effect of type of muscle and Cu supplementation on trace element concentrations in cattle meat. *Food Chem. Toxicol.* 49, 1443–1449, <https://doi.org/10.1016/j.fct.2011.03.041>
- Girard C.L., Berthiaume R., Faucitano L., Lafrenière C. 2007. Influence of beef production system on vitamin B12 concentrations in plasma and muscle. *Can. J. Anim. Sci.* 87, 2, 277–280, <https://doi.org/10.4141/A06-067>

- González-Montaña J.R., Escalera-Valente F., Alonso A.J., Lomillos J.M., Robles R., Alonso M.E., 2020. Relationship between Vitamin B12 and Cobalt Metabolism in Domestic Ruminant: An Update. *Animals* 10, 10, 1855, <https://doi.org/10.3390/ani10101855>
- Hocquette J.F., Ortigues-Marty I., Pethick D., Herpin P., Fernandez X., 1998. Nutritional and hormonal regulation of energy metabolism in skeletal muscles of meat-producing animals. *Livest. Prod. Sci.* 56, 115–143.
- Hocquette J.-F., van Wezemael L., Chriki S., Legrand I., Verbeke W., Farmer L., Scollan N.D. i in., 2014. Modelling of beef sensory quality for a better prediction of palatability. *Meat Sci.* 97, 316–322, <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2013.07.031>
- Holló G., Nuernberg K., Holló I., Csapó J., Seregi J., Repa I., Ender K., 2007. Effect of feeding on the composition of longissimus muscle of Hungarian Grey and Holstein Friesian bulls III. Amino acid composition and mineral content. *Arch. Anim. Breed.* 50, 575–586.
- Insani E.M., Eyherabide A., Grigioni G., Sancho A.M., Pensel N.A., Descalzo A.M., 2008. Oxidative stability and its relationship with natural antioxidants during refrigerated retail display of beef produced in Argentina. *Meat Sci.* 79, 444–452, <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2007.10.017>
- Jain R., Bronkema S.M., Yakah W., Rowntree J.E., Bitler C.A., Fenton J.I., 2020. Seasonal differences exist in the polyunsaturated fatty acid, mineral and antioxidant content of U.S. grass-finished beef. *Plos One* 15, 2, 1–14, <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0229340>
- Juárez M., Lam S., Bohrer B.M., Dugan M.E.R., Vahmani P., Aalhus J., Juárez A., López-Campos O., Prieto N., 2021. Segura J.. Enhancing the nutritional value of red meat through genetic and feeding strategies. *Foods* 10, 4, 872, <https://doi.org/10.3390/foods10040872>
- Kawachi H., 2006. Micronutrients affecting adipogenesis in beef cattle. *Anim. Sci. J.* 277, 463–471, <https://doi.org/10.1111/j.1740-0929.2006.00373.x>
- Keane M.G., Allen P., 1998. Effects of production system intensity on performance, carcass composition and meat quality of beef cattle. *Livest. Prod. Sci.* 56, 203–214, [https://doi.org/10.1016/S0301-6226\(98\)00155-9](https://doi.org/10.1016/S0301-6226(98)00155-9)
- Kessler J., Morel I., Dufey F.A., Gutzwiller A., Stern A., Geyes H., 2003. Effect of organic zinc sources on performance, zinc status, and carcass, meat, and claw quality in fattening bulls. *Livest. Prod. Sci.* 81, 161–171, [https://doi.org/10.1016/S0301-6226\(02\)00262-2](https://doi.org/10.1016/S0301-6226(02)00262-2)
- Kołczak T., 2008. Jakość wołowiny. *Żywn. Nauk. Technol. J.* 1, 56, 5–22.
- Kruk Z.A., Bottema C.D.K., Davis J.J., Siebert B.D., Harper G.S., Di J., Pitchford W.S., 2008. Effects of vitamin A on growth performance and carcass quality in steers. *Livest. Sci.* 119, 12–21, <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2008.02.008>
- Lawrie R.A., 2006. The eating quality of meat. [W:] R.A. Lawrie (red.), *Meat Sci.* Pergamon Press. Oxford, London, 279–341.
- López-Alonso M., 2012. Trace Minerals and Livestock: Not too much not too little. *Int. School. Res. Not.* 2, 1–18, <https://doi.org/10.5402/2012/704825>
- Łozicki A., Dymnicka M., Arkuszewska E., Pustkowiak H., 2012. Effect of pasture or maize silage feeding on the nutritional value of beef. *Ann. Anim. Sci.* 12, 1, 81–93, <https://doi.org/10.2478/v10220-012-0007-5>
- Mahecha L., Nuernberg K., Nuernberg G., Ender K., Hagemann E., Dannenberger D., 2009. Effects of diet and storage on fatty acid profile, micronutrients and quality of muscle from German Simmental bulls. *Meat Sci.* 82, 3, 365–371, <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2009.02.005>
- Maughan C., Tansawat R., Cornforth D., Ward R., Martini S., 2012. Development of a beef flavour lexicon and its application to compare the flavour profile and consumer acceptance of ribsteaks from grass- or grain-fed cattle. *Meat Sci.* 90, 116–121, <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2011.06.006>
- Mehdi Y., Dufresne I., 2016. Selenium in Cattle: A Review. *Molecules* 21, 4, 545, <https://doi.org/10.3390/molecules21040545>
- Meyer U., Weigel K., Schöne F., Leiterer M., Flachowsky G., 2008. Effect of dietary iodine on growth and iodine status of growing fattening bulls. *Livest. Sci.* 115, 219–225, <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2007.07.013>

- Momot M., Nogalski Z., Sobczuk-Szul M., Pogorzelska-Przybyłek P., 2016. Effect of fattening intensity on the fatty acid profile and mineral content of meat from Holstein-Friesian bulls. *J. Elem.* 21, 4, 1081–1091, <https://doi.org/10.5601/jelem.2015.20.4.1085>
- Mullis L.A., Spears J.W., McCraw R.L., 2003. Effects of breed (Angus vs Simmental) and copper and zinc source on mineral status of steers fed high dietary iron. *J. Anim. Sci.* 81, 1, 318–322, <https://doi.org/10.2527/2003.811318x>
- Nuernberg K., Dannenberger D., Nuernberg G., Ender K., Voigt J., Scollan N.D., Wood J.D., Nute, G.R., Richardson R.I., 2005. Effect of grass-based and a concentrate feeding system on meat quality characteristics and fatty acid composition of longissimus muscle in different cattle breeds. *Livest. Prod. Sci.* 94, 137–147, <https://doi.org/10.1016/j.livprodsci.2004.11.036>
- Oka A., Maruo Y., Miki T., Yamasaki T., Saito T., 1998. Influence of vitamin A on the quality of beef from the Tajima strain of Japanese black cattle. *Meat Sci.* 48, 159–167, [https://doi.org/10.1016/S0309-1740\(97\)00086-7](https://doi.org/10.1016/S0309-1740(97)00086-7)
- Pereira V., Carbajales P., López-Alonso M., Miranda M., 2018. Trace element concentrations in beef cattle related to the breed aptitude. *Biol. Trace Elem. Res.* 186, 135–142, <https://doi.org/10.1007/s12011-018-1276-3>
- Priolo A., Micol D., Agabriel J., 2001. Effects of grass feeding systems on ruminant meat colour and flavour. *Anim. Res.* 50, 185–200, <https://doi.org/10.1051/ANIMRES:2001125>
- Rafalska U., Stelmasik A., Moczowska M., Marcinkowska-Lesiak M., Wyrwisz J., Półtorak A., 2014. Wpływ witaminy D3 na kruchość kulinarnego mięsa wołowego. *Post. Tech. Przem. Spoż.* 2, 125–130.
- Ramos A., Cabrera M.C., Saadoun A., 2012. Bioaccessibility of Se, Cu, Zn, Mn and Fe, and heme iron content in unaged and aged meat of Hereford and Braford steers fed pasture. *Meat Sci.* 91, 2, 116–124, <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2012.01.001>
- Realini C.E., Duckett S.K., Brito G.W., Rizza M.D., De Mattos D., 2004. Effect of pasture vs. concentrate feeding with or without antioxidants on carcass characteristics, fatty acid composition, and quality of Uruguayan beef. *Meat Sci.* 66, 567–577, [https://doi.org/10.1016/S0309-1740\(03\)00160-8](https://doi.org/10.1016/S0309-1740(03)00160-8)
- Realini C.E., Font i Furnols M., Sañudo C., Montossi F., Oliver M.A. Guerrero L., 2013. Spanish, French and British consumers' acceptability of Uruguayan beef, and consumers' beef choice associated with country of origin, finishing diet and meat price. *Meat Sci.* 95, 14–21, <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2013.04.004>
- Resconi V.C., Campo M.M., Font i Furnols M., Montossi F., Sañudo C., 2010. Sensory quality of beef from different finishing diets. *Meat Sci.* 86, 865–869, <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2010.07.012>
- Rooke J., Flockhart J., Sparks N., 2010. The potential for increasing the concentrations of micro-nutrients relevant to human nutrition in meat, milk and eggs. *J. Agr. Sci.* 148, 5, 603–614, <https://doi.org/10.1017/S002185961000047X>
- Sadowska A., Rakowska R., Dybkowska E., Świąder K., 2016. Czynniki przedubojowe warunkujące wartość odżywczą i jakość sensoryczną mięsa wołowego. *Post. Tech. Przem. Spoż.* 2, 122–128.
- Sami A.S., Augustini C., Schwarz F.J., 2004. Effects of feeding intensity and time on feed on performance, carcass characteristics and meat quality of Simmental bulls. *Meat Sci.* 67, 195–201, <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2003.10.006>
- Schmidt J.R., Miller M.C., Andrae J.G., Ellis S.E., Duckett S.K., 2013. Effect of summer forage species grazed during finishing on animal performance, carcass quality, and meat quality. *J. Ani. Sci.* 91, 9, 4451–4461, <https://doi.org/10.2527/jas.2012-5405>
- Schwab E.C., Schwab C.G., Shaver R.D., Girard C.L., Putnam D.E., Whitehouse N.L., 2006. Dietary forage and nonfiber carbohydrate contents influence B-vitamin intake, duodenal flow, and apparent ruminal synthesis in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 89, 174–187, [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(06\)72082-3](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(06)72082-3)
- Scollan N., Hocquette J. F., Nuernberg K., Dannenberger D., Richardson I., Moloney A., 2006. Innovations in beef production systems that enhance the nutritional and health value of



- beef lipids and their relationship with meat quality. *Meat Sci.* 74, 1, 17–33, <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2006.05.002>
- Scollan N.D., Dannenberger D., Nuernberg K., Richardson I., MacKintosh S., Hocquette J.F., Moloney A.P., 2014. Enhancing the nutritional and health value of beef lipids and their relationship with meat quality. *Meat Sci.* 97, 3, 384–394, <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2014.02.015>
- Skřivanová E., Marounek M., De Smet S., Raes K., 2007. Influence of dietary selenium and vitamin E on quality of veal. *Meat Sci.* 76, 495–500, <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2007.01.003>
- Stangl G.I., Schwarz F.J., 1999. Kirchgessner M. Moderate long-term cobalt-deficiency affects liver, brain and erythrocyte lipids and lipoproteins of cattle. *Nut. Res.* 19, 415–427, [https://doi.org/10.1016/S0271-5317\(99\)00010-X](https://doi.org/10.1016/S0271-5317(99)00010-X)
- Tansawat R., Maughan C. A., Ward R. E., Martini S., Cornforth D. P., 2013. Chemical characterisation of pasture-and grain-fed beef related to meat quality and flavour attributes. *Int. J. Food Sci. Tech.* 48, 3, 484–495, <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2012.03209.x>
- Tiffany M.E., Spears J.W., Xi L., 2003. Horton J. Influence of dietary cobalt source and concentration on performance, vitamin B12 status, and ruminal and plasma metabolites in growing and finishing steers. *J. Anim. Sci.* 81, 3151–3159, <https://doi.org/10.2527/2003.81123151x>
- van den Top A.M., 2005. Reviews on the mineral provision in ruminants (XII): Zinc Metabolism and Requirements in Ruminants, CVB documentatierapport nr. 44, Centraal Veevoederbureau, November.
- Vestergaard M., Oksbjerg N., Henckel P., 2000. Influence of feeding intensity, grazing and finishing feeding on muscle fibre characteristics and meat colour of semitendinosus, longissimus dorsi and supraspinatus muscles of young bulls. *Meat Sci.* 54, 177–186, [https://doi.org/10.1016/S0309-1740\(99\)00097-2](https://doi.org/10.1016/S0309-1740(99)00097-2)
- Warren H.E., Scollan N.D., Enser M., Hughes S.I., Richardson R.I., Wood J.D., 2008. Effects of breed and a concentrate or grass silage diet on beef quality in cattle of 3 ages. I: Animal performance, carcass quality and muscle fatty acid composition. *Meat Sci.* 78, 256–269, <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2007.06.008>
- Waterman R.C., Kelly W.L., Larson C.K., Petersen M.K., 2017. Comparison of supplemental cobalt form on fibre digestion and cobalamin concentrations in cattle. *J. Agr. Sci.* 155, 832–838, <https://doi.org/10.1017/S0021859617000107>
- Webb E.C., 2006. Manipulating beef quality through feeding. *South Afr. J. Food Sci. Nut.* 7, 1, 1–24.
- Webb E.C., Erasmus L.J., 2013. The effect of production system and management practices on the quality of meat products from ruminant livestock. *South Afr. J. Anim. Sci.* 43, 3, 413–423, <https://doi.org/10.4314/sajas.v43i3.12>
- Williams J.E., Wagner D.G., Walters L.E., Horn G.W., Waller G.R., Sims P.L. Guenther J.J., 1983. Effect of production systems on performance, body composition, and lipid and mineral profiles of soft tissues in cattle. *J. Anim. Sci.* 57, 1020–1028, <https://doi.org/10.2527/jas1983.5741020x>
- Williamson C.S., Foster R.K., Stanner S.A., Buttriss J.L., 2005. Red meat in the diet. *Nutri. Bull.* 30, 4, 323–355, <https://doi.org/10.1111/j.1467-3010.2005.00525.x>
- Yang A., Brewster M.J., Lanari M.C., Tume R.K., 2002. Effect of vitamin E supplementation on alpha-tocopherol and beta-carotene concentrations in tissues from pasture and grain-fed cattle. *Meat Sci.* 60, 1, 35–40, [https://doi.org/10.1016/s0309-1740\(01\)00102-4](https://doi.org/10.1016/s0309-1740(01)00102-4)
- Zymon M., 2012. Walory odżywcze i smakowe wołowiny oraz możliwości ich kształtowania. *Wiad. Zoot.* 4, 93–98.



## ROZDZIAŁ 4

Karolina M. Wójciak, Dariusz M. Stasiak,  
Małgorzata Karwowska

# Funkcjonalne wyroby mięsne o obniżonej zawartości azotanów

## Wstęp

Współcześnie przy wyborze produktów mięsnych konsumenci zwracają szczególną uwagę na ich bezpieczeństwo zdrowotne, wartość odżywczą oraz cechy sensoryczne i dietetyczne. Obawa konsumentów przed chorobami cywilizacyjnymi, których główną przyczyną jest niewłaściwy sposób odżywiania, sprawia, iż rośnie zainteresowanie wyrobami funkcjonalnymi. Wymusza to poszukiwanie przez producentów alternatywnych metod i środków produkcji, które z jednej strony będą spełniać oczekiwania konsumentów, z drugiej zaś będą obniżały koszty produkcji. Azotan(III) sodu (E 250) odgrywa istotną rolę w przetwórstwie mięsa – jest substancją wykazującą silne działanie antyoksydacyjne, inhibituje wzrost bakterii patogennych oraz współtworzy charakterystyczną, różowoczerwoną barwę. Obecnie, zgodnie z Rozporządzeniem Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) nr 1333/2008, maksymalna ilość azotynu(III) sodu, jaka może być dodana do produktów mięsnych, wynosi od 100 do 150 mg/kg. Współczesna wiedza z zakresu technologii mięsa wskazuje na potrzebę eliminacji lub redukcji zawartości związków azotowych ze względu na możliwość tworzenia się w peklowanych produktach mięsnych kancerogennych N-nitrozoamin. Pewnym rozwiązaniem, służącym obniżeniu zawartości substancji konserwujących, może być fortyfikacja wyrobów mięsnych materiałem roślinnym bogatym w związki polifenolowe, o wysokim potencjale przeciwutleniającym, bakteriostatycznym i/lub bakteriobójczym.

## Źródła azotanów(V) i azotanów(III) w diecie człowieka

Badanie obecności azotanów w żywności w ramach urzędowej kontroli i monitoringu leży w gestii Państwowej Inspekcji Sanitarnej. Anyżewska i Wawrzyniak [2014] wykazały, że średnie pobranie azotanów(V) i azotanów(III) w latach 2006–2012 wynosiło 147 mg  $\text{NaNO}_3/\text{os.}/\text{dobę}$  (41% ADI) i 3,26 mg  $\text{NaNO}_2/\text{os.}/\text{dobę}$  (45% ADI). Pobranie azotanów(V) i azotanów(III) było deter-

minowane m.in. typem gospodarstwa domowego i największe zaobserwowano w gospodarstwach emerytów, jednak wartości ADI nie zostały przekroczone. W szczególności w województwie podlaskim średnie pobranie azotanu(V) sodu wynosiło 1,4 mg/os./dobę, a azotanu(III) sodu – 2,24 mg/os./dobę [Szczerbiński i Karczewski 2011]. Europejski Urząd ds. Bezpieczeństwa Żywności w 2017 r. przeprowadził ponowną ocenę bezpieczeństwa wykorzystywania azotanów(V) i azotanów (III) jako dodatków żywności, w wyniku której stwierdził, że nie ma konieczności zmiany ustalonych wcześniej limitów tych substancji w produktach żywnościowych.

Według Colli i in. [2018], a także van den Branda i in. [2020] azotany(V) przedostają się do organizmu człowieka przede wszystkim w wyniku spożycia warzyw (około 85%) oraz z wodą pitną (15%), a narażenie na azotany(V), których źródłem są surowce pochodzenia zwierzęcego, jest niewielkie w porównaniu z surowcami roślinnymi. W przypadku wody zdatnej do spożycia zawartość azotanów(V) i azotanów(III) powinna być niższa niż odpowiednio: 50 i 0,5 mg na litr. Azotany w wodzie pojawiają się na skutek ich migracji do wód powierzchniowych ze ścieków komunalnych, przemysłowych, a także wskutek spływu z terenów rolniczych, które użyźniano sztucznymi nawozami azotowymi. Schullehner i in. [2018] przeprowadzili ocenę wpływu pobrania azotanów z wodą na ryzyko występowania nowotworu jelita grubego wśród społeczeństwa w latach 1978–2011 i ujawnili związek między ilością azotanów w wodzie a procesem karcynogenezy dolnych odcinków przewodu pokarmowego. Autorzy stwierdzili, że ryzyko zachorowania na nowotwór okrężnicy było wysokie, nawet przy zanieczyszczeniu azotanami poniżej limitu dopuszczanego przepisami prawnymi, tym samym wskazując na konieczność weryfikacji obowiązujących przepisów.

Azotany są bardzo ważnym składnikiem odżywczym roślin. Nawozy azotowe, które są najczęściej stosowane w produkcji roślinnej, stanowią główne źródło azotanów (III) i (V). Kompost lub obornik jako nawozy organiczne w rolnictwie ekologicznym, również zawierają azot, ale występujący w formie związków organicznych niedostępnych dla roślin. Dlatego zdecydowanie większa zawartość azotanów występuje w żywności z gospodarstw konwencjonalnych, a warzywa z gospodarstw ekologicznych zawierają istotnie mniej azotanów i pozostałości środków ochrony roślin [Wawrzyniak i in. 2004]. Wyniki dotychczasowych badań ukazują, że żywność ekologiczną cechuje wyższa zawartość nienasyconych kwasów tłuszczowych, niektórych witamin i antyoksydantów oraz niektórych mikroelementów. Jednak niewystarczająca dostępność i wysoka cena istotnie ograniczają wielkość konsumpcji, zatem w diecie dominuje żywność konwencjonalna. I mimo że wyniki badań nie ujawniają przekroczeń dopuszczalnych poziomów, to ważne ze względów zdrowotnych społeczeństwa jest ograniczanie spożycia azotanów (III) i (V) ze wszystkich źródeł. W szczególności system gospodarowania umożliwia pozyskiwanie bezpiecznej żywności o naturalnych cechach funkcjonalnych [Makała 2019]. Tamme i in. [2010] zaobserwowali, że akumulacja azotanów w roślinach rośnie wraz ze wzrostem występowania niekorzystnych bodźców środowiskowych. Zawartość azotanów

w roślinach jest różna w różnych częściach anatomicznych i maleje w następującym porządku: liść > łodyga > korzeń [Lidder i Webb 2012, Colla i in. 2018]. Dlatego warzywa z upraw konwencjonalnych są głównym źródłem azotanów(V) w diecie człowieka. Poziom azotanów w warzywach zależy także od takich czynników, jak: rodzaj gleby, wilgotność, czas przechowywania, sposób uprawy roślin, natężenie światła, temperatura, rodzaj stosowanych nawozów [Correia i in. 2010, Lidder i Webb 2012]. W szczególności warzywa z rodzin: Chenopodiaceae, Brassicaceae, Amarantaceae, Apiaceae i Asteraceae charakteryzują się wysokim tempem akumulacji azotanów [Correia i in. 2010]. Szpinak, pietruszka, kapusta i rzepa także zawierają znaczne ilości azotanów [Correia i in. 2010], jednak ich ilość ulega istotnemu obniżeniu na skutek obróbki cieplnej i przechowywania [Colla i in. 2018, Ranasinghe i Marapana 2018]. Nieprawidłowe warunki magazynowania zebranych warzyw mogą przyczynić się do rozwoju bakterii denitryfikujących mających zdolność redukcji azotanów(V) do azotanu(III) [Correia i in. 2010, Lidder i Webb 2012, Ranasinghe i Marapana 2018]. Correia i in. [2010] wykryli pozostałości azotanu(III) o wartościach między 1,1 a 75 mg/kg, natomiast azotanu(V) w zakresie od 54 do 2440 mg/kg w warzywach takich jak: jarmuż, rzepa, kapusta, sałata, szpinak i pietruszka. W przypadku owoców zawartość azotanu(V) jest zwykle na niższym poziomie, w przedziale od 23 do 103 mg/kg, zaś azotanu(III) od 4,6 do 57,5 mg/kg [Rezaei i in. 2014, Ranasinghe i Marapana 2018].

Zboża i produkty jego przemiału nie stanowią istotnego źródła azotanów(V) i azotanów(III) w diecie człowieka. Stężenia azotanów zależą głównie od lokalizacji pól uprawnych i mieszczą się w przedziałach 0,03–0,154 mg/kg i 3,0–21,3 mg/kg odpowiednio dla azotanu(III) i azotanu(V) [Abdulrazak i in. 2014].

Występowanie azotanu(III) w produktach mlecznych jest skutkiem jego stosowania jako substancji konserwującej. Ale może także wynikać z zanieczyszczeń krzyżowych lub być skutkiem błędów technologicznych [Zamrik 2013]. Azotany sodu lub potasu są zwykle dodawane w trakcie procesu produkcji serów jako środki przeciwdrobnoustrojowe (*Clostridium tyrobutyricum* i *C. butyricum*), a także w celu zapobiegania powstaniu wad, takich jak np. pęknięcia, szczeliny i dziury, powodowanych obecnością tych bakterii [Topçu i in. 2006, Tudor i in. 2007]. Zawartość azotanu(V) w produktach mlecznych (np. turecki biały ser) jest na zróżnicowanym poziomie od 0,47 do 23,68 mg/kg i wynika z różnej długości dojrzewania i zróżnicowanych warunków przechowywania serów. Stężenie azotanu(III) mieściło się w przedziale między 0,88 a 1,64 mg/kg [Topçu i in. 2006]. Co ciekawe, Tudor i in. [2007] zaobserwowali obecność azotanu(V) (1–8 mg/kg) oraz azotanu(III) (poniżej 1 mg/kg) w produktach mlecznych oznaczonych jako nitrate/nitrite-free, sugerując, że ich obecność była wynikiem wtórnego zanieczyszczenia i niedostatecznych warunków higieniczno-sanitarnych w zakładach przetwórczych. Jednak zdaniem niektórych naukowców głównym źródłem azotanu(III) w diecie człowieka są wyroby mięsne [Sebranek i Bacus 2007, Alahakoon i in. 2015]. Opinia ta obecnie jest chyba nadmiernym uogólnieniem i w związku z tym jest dyskusyjna [Brand van den i in. 2020]. Zbyt wiele czynników determinuje zawartość azotanów (III) i (V)

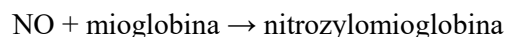
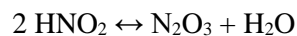
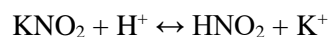
w produktach mięsnych. Zasadniczo są dodawane z powodów technologicznych w celu konserwacji produktów mięsnych. Jednak biorąc pod uwagę ogromny postęp w zakresie higieny produkcji, skrócenie łańcucha dostaw, przestrzeganie reżimu technologicznego, łatwość utrzymania łańcucha chłodniczego, stosowanie specjalnych opakowań, a zwłaszcza rosnącą świadomość konsumentów producenci świadomie ograniczają (w stosunku do limitów wynikających z obowiązujących przepisów) ilość stosowanych azotanów, a także proponują produkty „clean label” i bez dodatku azotanów. W szczególności to poziom akceptacji konsumentkiej jest fundamentalną cechą determinującą sukces lub porażkę rynkową produktu. Należy to badaczom niejaki trudności, których przyczyną jest dynamizm zmian zachodzących na rynku żywności powodowanych przez wiele czynników, takich jak: globalizacja, migracja ludności, moda i trendy w żywieniu, nowa wiedza na temat bezpieczeństwa żywności, zmiany demograficzne itp. Pomocne może być wykorzystanie metody opracowanej przez Noriaki Kano, polegającej na przełożeniu ogólnych oczekiwań i opinii klientów dotyczących wyrobu na język specjalistyczny. Używana w początkowej fazie powstawania produktu uwzględnia wiele czynników, m.in. wymagania klienta, innowacyjność, konkurencję [Djekic i in. 2020]. Dlatego badania w tym zakresie są tak istotne dla bezpieczeństwa żywności i zapewnienia zdrowia publicznego, zwłaszcza rozważając łączne narażenia na azotany i azotyny ze wszystkich źródeł, biorąc pod uwagę niepewność dotyczącą wielkości konwersji azotanów i stosowanie różnych scenariuszy dla wody pitnej [van den Brand i in. 2020].

### **Funkcje oraz aspekty prawne związane z zastosowaniem azotanów w technologii mięsa**

Azotan(III) i (V) sodu albo potasu najczęściej jest kojarzony z procesem peklowania i widocznymi technologicznymi skutkami dla przetwórstwa mięsa. Dotychczas zdobyta wiedza na temat skutków procesu peklowania dotyczy następujących funkcji:

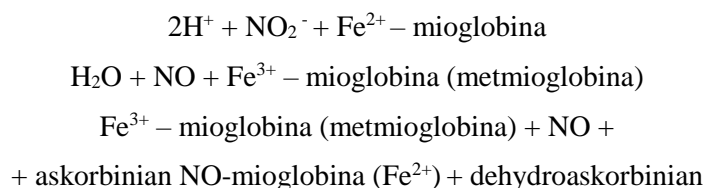
1) Utworzenie i ukształtowanie barwy charakterystycznej dla mięsa peklowanego (30–50 mg/kg NaNO<sub>2</sub>).

(KNO<sub>3</sub>) azotan → mikrobiologiczna redukcja → (KNO<sub>2</sub>) azotyn



Różowoczerwona barwa mięsa peklowanego jest wynikiem reakcji chemicznej tlenku azotu (NO), uwolnionego z azotanu(III) sodu/potasu w wyniku

przemian chemicznych, z barwnikiem mięsa – mioglobina. W wyniku reakcji dochodzi do wytworzenia pożądanego barwnika nitrozylomioglobiny w wyrobach dojrzewających oraz nitrozohemochromu w wyrobach mięsnych poddanych obróbce cieplnej. Szacuje się, że ilość azotanu(III) sodu od 2 do 14 mg/kg mięsa czerwonego wystarczy do wytworzenia nitrozylomioglobiny. Aby barwa wyrobów mięsnych była trwała podczas przechowywania, ilość azotanu(III) sodu/potasu powinna wynosić ok. 50 mg/kg.



2) Hamowanie rozwoju niektórych niepożądanych, stanowiących zagrożenie zdrowotne, drobnoustrojów, np. *Clostridium botulinum* (50–150 mg/kg NaNO<sub>2</sub>).

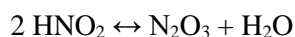
Działanie bakteriostatyczne i bakteriobójcze należy do najważniejszych funkcji azotanów w wyrobach mięsnych. Wykazano, że azotan(III) sodu/potasu hamuje wzrost bakterii w szczególności: *Clostridium botulinum*, *Clostridium perfringens*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*. Hamujące działanie azotanu(III) w stosunku do *Clostridium botulinum* tłumaczone jest wiązaniem przez azotan żelaza, co prowadzi do obniżenia jego biodostępności dla mikroorganizmów.

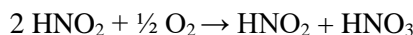
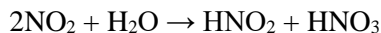
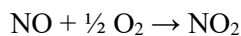
3) Wytworzenie smaku i zapachu typowego dla mięsa peklowanego (20–40 mg/kg NaNO<sub>2</sub>).

Rola azotanu(III) sodu w kształtowaniu zapachu i smaku mięsa peklowanego jest złożona i nie do końca poznana. Przypuszcza się, że aromat mięsa peklowanego powstaje w wyniku złożonych reakcji tlenku azotu oraz azotanu(III) z białkami oraz lipidami. Powstające w wyniku reakcji z aminokwasami (3-nitrotyrozyna, 3,4-dihydroksyfenyloalanina czy *N*-nitrozotryptofan, nitrozocysteina, nitrozopirolidyna) oraz lipidami (alkiloazotyny, alkilocyjanki) związki chemiczne kształtują typowy aromat mięsa peklowanego. Wykazano, że dodatek 20–40 mg/kg azotanu(III) sodu/potasu jest wystarczający do wytworzenia smaku i zapachu mięsa peklowanego.

4) Działanie przeciwutleniające (20–40 mg/kg NaNO<sub>2</sub>).

Stosowanie azotanu(III) sodu/potasu w produkcji wyrobów mięsnych hamuje szybkość procesów utleniania, a tym samym wydłuża trwałość przechowywalności wyrobów mięsnych. Dzięki temu zapobiega pojawieniu się efektu warmed over flavour (WOF). Smakowitość takiego produktu określa się przymiotnikami: zjełczały, nieswieży, stęchły, stary, metaliczny.





Żelazo związane w cząsteczce chromoproteidu traci wtedy zdolność do katalizowania reakcji utleniania. Azotan(III) sodu/potasu może również tworzyć związki przeciwutleniające, np. S-nitrozocysteinę. Zachodzące w trakcie przechowywania produktu procesy utleniania azotanu(III) do azotanu(V) zwiększają stabilność oksydacyjną poprzez związanie tlenu. Przeciwutleniające działanie azotanu(III) sodu/potasu upatrywane jest w reakcji tlenku azotu z metalami chromoproteidów.

Liczne badania wykazały, że w wyniku zachodzących procesów autooksydacji w tłuszczach powstaje szereg związków toksycznych dla człowieka. Produkty utlenienia mogą uszkadzać błony komórkowe oraz wewnątrzkomórkowe struktury (np. mitochondria i mikrosomy), blokować enzymy oraz przyczyniać się do powstawania miażdżycy i nowotworów, a także zubażać organizm w witaminy A i C. W przypadku wodoronadtlenków lipidów (LOOH) ich toksyczność w organizmie człowieka jest znikoma (o ile dostaną się do organizmu z żywnością), gdyż znaczna ich część zostaje zniszczona lub ulega przekształceniu do nieszkodliwych hydroksykwasów. Podczas wchłaniania w jelitach powstaje dialdehyd malonowy (MDA) w wyniku utleniania WNKT *n*-6 i *n*-3. MDA posiada możliwość tworzenia wiązań kowalencyjnych z DNA i grupami aminowymi fosfolipidów i białek, w wyniku czego może wpływać na ich strukturę i właściwości biologiczne. Zarówno pojedyncze cząsteczki, jak i polimery MDA mogą reagować z DNA. Konsekwencją są mutacje i wiązania poprzeczne pomiędzy nukleotydami tej samej lub przeciwnej nici DNA oraz pomiędzy dwiema niezależnymi cząsteczkami DNA. Aldehydy w komórkach mogą dyfundować na znaczne odległości, reagując z grupami tiolowymi białek oraz z grupami aminowymi białek, lipidów, aminocukrów i zasad azotowych wchodzących w skład kwasów nukleinowych. Wykazano reakcje MDA z cytozyną, adeniną i guaniną. Aldehydowe produkty peroksydacji lipidów reagują również z resztami aminokwasów: tyrozyny, argininy, histydyny, lizyny.

Azotan(III) i (V) sodu/potasu w wyrobach mięsnych podlega transformacji. Azotan(V) sodu ( $\text{NaNO}_3$ ) pod wpływem działania bakteryjnej reduktazy azotanowej ulega redukcji do azotanu(III) sodu ( $\text{NaNO}_2$ ). Azotan(III) sodu w środowisku kwaśnym ulega przemianie do kwasu azotawego ( $\text{HNO}_2$ ), a następnie do tritlenku diazotu ( $\text{N}_2\text{O}_3$ ) i wody. Tritlenek diazotu ulega rozkładowi do tlenku azotu (NO) oraz ditlenku azotu ( $\text{NO}_2$ ). Zawartość azotanu(III) sodu dodanego do wyrobów mięsnych ulega gwałtownym przemianom w wędlinach. W produkcie gotowym azotan(III) sodu pozostaje w stanie niezmienionym (5–20%), ulega utlenieniu do azotanu(V) sodu (1–10%), łączy się z mioglobiną (5–15%) oraz z grupami –SH (5–15%), reaguje z lipidami (1–15%), wchodzi w reakcje z białkami (20–30%) a także przechodzi w formę gazową (1–5%) [Honikel 2008].



Azotan(III) sodu/potasu wykazuje działanie przeciwbakteryjne, przeciwutleniające, kształtujące barwę oraz smakowitość wyrobów mięsnych.

Obecnie, zgodnie z Rozporządzeniem Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) nr 1333/2008, maksymalna ilość azotanu(III) dodanego do produktów mięsnych wynosi 150 mg/kg (ang. non-sterylized heated meat products). Rozporządzenie dopuszcza stosowanie azotanu(V) sodu/potasu tylko w odniesieniu do wyrobów niepoddanych obróbce cieplnej (ang. non-heated processed meat product) w ilości do 150 mg/kg. Maksymalny dozwolony dodatek azotanu(III) sodu/potasu do konserw sterylizowanych ( $F_0 = 3$ ) (ang. sterilized heated meat product) wynosi 100 mg/kg. Istnieją jednak wyjątki od tej reguły. W odniesieniu do niektórych tradycyjnie peklowanych produktów mięsnych maksymalny dozwolony dodatek azotanu(III) wynosi 175 mg/kg (Entremeada, entrecosto, chispe, orelheira e cabeça, toucinho fumado i podobne; oraz rohschinken, trocken-gepökelt i podobne), 50 mg/kg lub 180 mg/kg (vysočina, selský salám, turistický trvanlivý salám itp.).

### **Kontrowersje związane z obecnością azotanów w produktach mięsnych**

W krajach członkowskich Unii Europejskiej mięso i wyroby mięsne stanowią jedną z najbardziej popularnych grup spożywanej żywności. Europejczyk spożywa rocznie od 60 do 135 kg mięsa i przetworów mięsnych, w tym 30–60 kg mięsa wieprzowego. Mięso i produkty mięsne są bogatym źródłem aminokwasów egzogennych, takich jak fenyloalanina, lizyna, leucyna, izoleucyna, metionina, treonina, tryptofan, walina oraz względnie egzogennych, będących prekursorami do syntezy związków azotowych o znaczeniu fizjologicznym. Mięso i wyroby mięsne są cennym źródłem witamin z grupy B oraz witaminy A, E, C i PP. Mięso stanowi także dobre źródło wielu składników mineralnych. Stosunkowo najmniej poznana, a zarazem bardzo istotną grupą aktywnych składników mięsa są peptydy. Mięso zwierząt rzeźnych stanowi bogate źródło histydylowych peptydów przeciwutleniających:  $\beta$ -alanylo-L-histydyny (karnozyna) oraz N- $\beta$ -alanylo-1-metylo-1-histydyny (anseryna).

Pomimo tych walorów IARC zakwalifikował mięso czerwone jako potencjalnie rakotwórcze (grupa 2a uwzględniająca m.in. kawę i gorące napoje), zaś przetworzone wyroby mięsne jako rakotwórcze (grupa 1 uwzględniająca m.in. napoje alkoholowe). W uzasadnieniu WHO podaje, że przetwory mięsne zostały zakwalifikowane do grupy rakotwórczych ze względu na zawartość substancji kancerogennych: *N*-nitrozoamin w wyrobach peklowanych, wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych (WWA) w przetworach wędzonych oraz heterocyklicznych amin aromatycznych (HAA) w produktach poddanych obróbce termicznej w wysokiej temperaturze.

Powstawanie *N*-nitrozoamin jest ściśle związane z przemianami azotanów zachodzącymi w wyrobach mięsnych peklowanych. W kwaśnym środowisku

żołądka azotan ulega przekształceniu m.in. w tlenek azotu (NO). Następnie w górnej części jelita cienkiego azotan jest wchłaniany do krwi [Tamme i in. 2010, Habermeyer i in. 2015]. Ilość azotanów w ślinie jest 10 razy większa niż we krwi, ponieważ azotany są wydalane przez gruczoły ślinowe. Ponadto bakterie obecne w jamie ustnej, zwłaszcza na języku (np. gatunki *Veillonella*, *Staphylococcus epidermidis*, *Actinomyces*, *Rothia*), redukują ok. 20–25% azotanów(V) do azotanów(III) [Tamme i in. 2010, Lidder i Webb 2012, Bryan i van Grinsven 2013, Habermeyer i in. 2015].

Szacuje się, że ok. 70–80% całkowitej ekspozycji organizmu człowieka na azotan(III) jest spowodowane działaniem bakterii denitryfikujących i spożyciem azotanu(V) [Tamme i in. 2010]. Można zatem uznać, że warzywa bogate w azotan(V) stanowią poważne zagrożenie dla zdrowia człowieka [van den Brand i in. 2020]. Jednakże obecność w warzywach związków przeciwutleniających istotnie hamuje reakcję nitrozowania [Lidder i Webb 2012, Bryan i van Grinsven 2013]. Po spożyciu z żywnością, w kwaśnym pH żołądka, azotan ulega przekształceniu do kwasu azotawego, który jest następnie redukowany do NO i innych reaktywnych form azotu [Milkowski i in. 2010, Lidder i Webb 2012]. Tlenek azotu jest również ważnym związkiem chemicznym uczestniczącym w reakcjach immunologicznych, regulacji homeostazy sercowo-naczyniowej i rozszerzaniu naczyń [DeMartino i in. 2019]. Ponadto działa jako neuroprzebiegacz w obwodowym i ośrodkowym układzie nerwowym (np. w regulacji procesu opróżniania żołądka). Azotan(III) jest znacznie bardziej reaktywny niż azotan(V), szczególnie w kwaśnym środowisku żołądka [Bryan i van Grinsven 2013]. Kwas azotowy jest czynnikiem nitrozującym. Bierze udział w reakcjach, w których powstają endogenne nitrozoaminy (ang. N-nitrosoamines compounds, NOC). Jednak NO może być również źródłem powstawania azotynów i azotanów, które mogą krążyć w organizmie człowieka [Bedale i in. 2016, WHO 2016, Ward i in. 2018]. Wysoki poziom azotanów(III) w organizmie człowieka może prowadzić do chorób, takich jak methemoglobinemia, która jest stanem zagrażającym życiu z powodu obniżonej zdolności krwi do przenoszenia tlenu na skutek obecności methemoglobiny [Ward i in. 2018]. Niemowlęta w wieku poniżej 6 miesięcy są szczególnie wrażliwe na tę chorobę, co jest powiązane z niedojrzałym układem reduktazy methemoglobiny i wytwarzaniem niewielkiej ilości kwasu żołądkowego [Bryan i van Grinsven 2013, Ward i in. 2018].

Kontrowersje żywieniowe dotyczące azotanu(III) sodu/potasu związane są z możliwością tworzenia toksycznych dla człowieka nitrozoamin *in situ* oraz *in vivo*. N-nitrozoaminy są pochodnymi II-rzędowych dialkilo-, diarylo- lub alkiloaryloamin bądź też II-rzędowych amin cyklicznych. Nitrozoaminy odznaczają się rakotwórczością w stosunku do wielu gatunków zwierząt, ponadto wykazują działanie mutagenne, teratogenne i embriotoksyczne [Honikel 2008]. N-nitrozoaminy w swoim działaniu kancerogennym wykazują charakterystyczną organotropię, przejawiającą się tym, że w zależności od budowy chemicznej poszczególne związki selektywnie indukują nowotwory w określonych narządach i tkankach zwierząt doświadczalnych. NDMA wywołuje zwykle nowotwory wątroby, a NDBA indukuje procesy nowotworzenia w pęcherzu moczowym.

NMOR i NPIP wywołują ostre objawy neurotoksyczne. *N*-nitrozoaminy mogą powstawać w produktach spożywczych w trakcie zabiegów technologicznych oraz przechowywania produktów, a także bezpośrednio w organizmie człowieka jako skutek działania mikroorganizmów przewodu pokarmowego redukujących azotan(V) do azotanu(III), utleniających amoniak do azotynów czy degradujących białka do amin II-rzędowych. Do najczęściej występujących w produktach mięsnych związków *N*-nitrozowych należą: *N*-nitrozodimetyloamina (NDMA), *N*-nitrozodimetyloamina, *N*-nitrozopirolidyna, *N*-nitrozopiperidyna. Większość nitrozozwiązków pochodzi z syntezy endogennej, głównie w żołądku, czemu sprzyja niskie pH. Związki nitrozowe powstałe w żołądku mogą dyfundować na znaczne odległości i przenikać do innych organów. Reakcji nitrozowania w jelicie grubym mogą podlegać aminokwasy, amidy, indole, fenole oraz kwas glikocholowy [Jakszyn i in. 2006]. Badania prowadzone w UE wykazały, że przeciętny mieszkaniec pobiera dziennie wraz z dietą od 0,3 do 1,0 µg tych związków, głównie *N*-nitrozodimetyloaminy, *N*-nitrozopirolidyny i *N*-nitrozopiperidyny. W UE nie ustalono maksymalnych dopuszczalnych limitów dla *N*-nitrozoamin w produktach spożywczych, natomiast w USA dla wędlin obowiązuje limit 10 µg/kg (całkowita zawartość lotnych *N*-nitrozoamin). W Chinach limity (4 i 7 µg/kg) obowiązują dla ryb i produktów pokrewnych. Najobszerniejsze regulacje (2 do 4 µg/kg) dotyczą obszaru Unii Celnej Republiki Białorusi, Republiki Kazachstanu i Federacji Rosyjskiej.

Ograniczenie lub zupełne wyeliminowanie dodatku azotanu(III) sodu/potasu do wyrobów mięsnych jest od kilkunastu lat jednym z głównych nurtów badawczych nauki o mięsie na całym świecie. Liczne publikacje naukowe wskazują propozycje wyeliminowania azotanu(III) z produkcji wyrobów mięsnych poprzez zastosowanie ekstraktów roślinnych (szpinaku, selera, sałaty) bogatych w azotany(V) [Sebranek i Bacus 2007]. Przeciwtleniające oraz przeciwbakteryjne właściwości azotanu(III) próbuje się zastąpić dodatkiem ekstraktów roślinnych (rozmarynu, szałwii, tymianku, czosnku) [Alahakoon i in. 2015], dodatkiem kwasów organicznych (mlekowego, octowego, sorbowego) i ich soli [Kim i in. 2019] oraz wprowadzeniem bakteriocyn, np. nizyny [Gálvez i in. 2007]. Właściwości barwiące azotanu(III) próbowano substytuować ekstraktem z buraka, pomidora czy żurawiny [Qiu i Wu 2007, Cui i in. 2010]. Wielokierunkowe działanie azotanu(III) sodu/potasu powoduje, że nie udało się dotychczas zidentyfikować skutecznego substytutu, np. pochodzenia roślinnego.

## **Metody ograniczania ilości i substytucja azotanów w technologii mięsa**

Jedną z najważniejszych zalet stosowania azotanów w produkcji wyrobów mięsnych jest zdolność wytworzenia nitrozylomioglobiny zapewniającej stabilną różowoczerwoną barwę. Jak wcześniej opisano, pod wpływem obróbki cieplnej niestabilna nitrozylomioglobina ulega denaturacji do stabilnego nitrozomio-

chromogenu [Govari i Pexara 2015]. Podobny efekt można uzyskać dzięki dodatkowi niebędących azotanami substancji wyekstrahowanych z części roślin. W tabelach 1 i 2 scharakteryzowano wpływ wybranych ekstraktów roślinnych na barwę, stabilność oksydacyjną oraz wyróżniki sensoryczne wyrobów mięsnych poddanych obróbce cieplnej z obniżoną zawartością azotanu(III). Riel i in. [2017] nie zidentyfikowali istotnych różnic w jasności barwy ( $L^*$ ) kielbas typu mortadela z dodatkiem sproszkowanego ekstraktu z pietruszki (PEP), obserwowali natomiast istotne różnice pomiędzy próbkami w udziale barwy czerwonej ( $a^*$ ) w ogólnym tonie barwy. Niestety udział barwy czerwonej w produkcie zmniejszał się wraz z upływem czasu przechowywania. Co istotne, procentowa redukcja parametru barwy  $a^*$  zależała od ilości zastosowanego PEP i była tym niższa, im wyższe było stężenie dodanego ekstraktu. Wynosiła ona odpowiednio: 37,29% dla prób z dodatkiem 1,07 g/kg PEP, 12,61% dla 2,12 g/kg dodatku PEP i 6,56% dla 4,29 g/kg dodatku PEP. W przypadku próby kontrolnej (1,8% azotanu(III)) zmniejszenie wartości parametru  $a^*$  barwy wyniosło tylko 2,2%. Jednocześnie wraz ze wzrostem ilości zastosowanego ekstraktu z pietruszki zwiększał się udział barwy żółtej ( $b^*$ ) w ogólnym tonie barwy wyrobu. Autorzy stwierdzili, że wzrost wartości parametru  $b^*$  barwy w próbach z ekstraktem był najprawdopodobniej spowodowany obecnością barwników roślinnych [Riel i in. 2017]. Analiza sensoryczna produktu wykazała, że zastosowanie ekstraktu z pietruszki w stężeniu 4,29 g/kg nie przyczyniło się do pogorszenia smaku i zapachu produktu. Ponadto według panelu oceniającego jakość ogólna prób z dodatkiem 2,14 i 4,29 g/kg sproszkowanego ekstraktu z pietruszki była wyższa w porównaniu z próbą z dodatkiem 1,07 g/kg ekstraktu [Riel i in. 2017].

Khaleghi i in. [2016] zaobserwowali, że ekstrakt z berberysu powoduje obniżenie jasności barwy ( $L^*$ ) kielbas wołowych w porównaniu z próbą kontrolną peklowaną. Autorzy zwrócili również uwagę, że połączenie 90 mg/kg ekstraktu roślinnego z azotanem(III) nie tylko spowodowało zmniejszenie udziału barwy czerwonej w ogólnym tonie barwy przechowywanego wyrobu, ale także spowodowało wzrost stężenia wtórnych produktów oksydacji lipidów reagujących z kwasem tiobarbiturowym i obniżenie stabilności oksydacyjnej. Dodatek czerwonego wina w ilości 7,5% do kielbasy chouriço wpłynął korzystnie na parametr  $a^*$  barwy. Udział barwy czerwonej był taki sam jak w próbie kontrolnej zawierającej 150 ppm azotanu(III). Zastosowanie wyższego stężenia ekstraktu z berberysu skutkowało wzrostem aktywności antyoksydacyjnej jedynie w ciągu kilku pierwszych dni przechowywania. Autorzy [Khaleghi i in. 2016] zasugerowali istnienie antagonistycznego efektu między związkami fenolowymi pochodzącymi z ekstraktu z berberysu i azotanem(III). Ponadto podali, że równoczesny dodatek *B. crataegina* i azotanu(III) skutkowało obniżeniem stabilności oksydacyjnej i jakości sensorycznej produktu w porównaniu z próbkami przygotowanymi z 30 i 60 mg/kg dodatkiem ekstraktu oraz 90 mg/kg azotanu(III). Patarata i in. [2020] zaobserwowali, że jednoczesny dodatek czerwonego wina (7,5%) i czosnku (1%) zwiększył udział barwy żółtej ( $b^*$ ) w ogólnym tonie barwy wyrobu. Podobne wyniki badań uzyskano dla peklowanych kielbas wołowych (30 mg/kg  $\text{NaNO}_2$ ), do których wprowadzono ekstrakty z wyłoków wino-

gronowych (1% i 2%). Zastosowany dodatek przyczynił się do obniżenia wartości parametrów  $a^*$  i  $L^*$  barwy. Połączenie czosnku i czerwonego wina spowodowało zbrązowienie wyrobu zidentyfikowane w ocenie sensorycznej. Ponadto próby przygotowane z winem oraz w połączeniu z innymi ekstraktami roślinnymi wykazywały zwiększoną intensywność aromatu „peklowanego mięsa” [Patarata i in. 2020].

Riazi i in. [2016] stwierdzili, że większe ilości naturalnych substancji antyoksydacyjnych nie w każdym przypadku prowadzą do hamowania autooksydacji lipidów. Moawad i in. [2012] podali, że azotan(III) sodu dodany w ilości 100 i 125 mg/kg w połączeniu z katechinami zielonej herbaty (300 mg/kg) przyczynił się do stabilizacji pożądanej różowoczerwonej barwy kiełbasy surowo dojrzewającej oraz zwiększył jej stabilność oksydacyjną. Jednocześnie autorzy odnotowali istotnie wyższe wartości parametru  $b^*$  barwy wyrobu fortyfikowanego zieloną herbatą. Aliyari i in. [2020] zaobserwowali, że wzbogacenie bezazotanowych kiełbas wołowych w ekstrakt ze skórki granatu odmiany *Malase torshe saveh* i zielonej łuski z pistacji odmiany *Ahmad aghaei* w ilości 1250 ppm, przyczyniło się do wzrostu udziału barwy żółtej ( $b^*$ ) w ogólnym tonie barwy. Wartość parametru jasności barwy  $L^*$  w kiełbasach wołowych rosła wraz ze wzrostem stężenia ekstraktu z zielonej pistacji (od 250 do 1250 ppm przy jednoczesnej redukcji azotanów(III) od 100 do 0 ppm). Jednak udział barwy czerwonej, opisywany parametrem  $a^*$ , ulegał systematycznemu obniżeniu w prawie wszystkich badanych próbach. Podobne wyniki uzyskano przy zastosowaniu ekstraktów powstałych z odpadów roślinnych, jakimi są skórki owoców i wyciągi winogronowe. Autorzy nie uzyskali istotnych różnic w wyróżnikach sensorycznych prób przygotowanych z 1% i 2% dodatkiem wyciągów. Natomiast w porównaniu z próbą kontrolną przygotowaną z azotanem(III), wyciągi winogronowe poprawiały smakowość, jednocześnie obniżając udział barwy czerwonej w ogólnym tonie barwy produktu [Aliyari i in. 2020].

Manihuruka i in. [2017] zasugerowali wykorzystanie skórki owocu pitaja (*Hylocereus polyrhizus*) jako naturalnego barwnika i antyoksydantu. Pomimo iż surowce te są bogatym źródłem betacyjaniny odnotowano, że udział barwy czerwonej w ogólnym tonie barwy kiełbas wołowych okazał się niższy niż w próbie kontrolnej, co mogło być efektem degradacji betacyjanin podczas procesu obróbki cieplnej (60–65°C, 60 min). Równocześnie stwierdzili wzrost udziału barwy żółtej ( $b^*$ ) w ogólnym tonie barwy, skorelowany dodatnio ze stężeniem ekstraktu, a będący wynikiem wzrastającej zawartości betaksantyny. Autorzy obserwowali również wzrost aktywności przeciwutleniającej mierzonej wobec kationorodnika ABTS z 49,71% (próba kontrolna) do odpowiednio: 54,76%, 60,89% i 72,94% przy zastosowaniu 20%, 30% i 40% dodatku ekstraktu.

Stwierdzono, że dodatek 0,2% ekstraktu z fasoli adzuki do przygotowania kiełbasy wieprzowej niepeklowanej przyczynił się do wzrostu wartości parametru  $a^*$  barwy wyrobu przy jednoczesnym obniżeniu parametru jasności ( $L^*$ ) [Jayawardana i in. 2011]. Autorzy stwierdzili ponadto, że ekstrakt inhibituje oksydację lipidów z siłą zbliżoną do syntetycznego 0,1% BHT. Co więcej, autorzy uznali, że dodatek 0,2% ekstraktu był optymalny i przyczynił się do hamo-

wania procesu oksydacji lipidów w stopniu większym niż azotan(III) sodu. Nietety wzbogacenie produktu ekstraktem z fasoli adzuki (0,2%) obniżyło smakowitość wyrobu w porównaniu z próbą kontrolną [Jayawardana i in. 2011].

Podobne wyniki uzyskano również dla kiełbasy wieprzowej przygotowanej z liofilizowanego ekstraktu z nasion annato dodanego w różnych proporcjach (0,025%, 0,05%, 0,1% i 0,2%) [van Cuong i Thoa 2017]. Aplikowany dodatek spowodował również istotną redukcję pierwotnych (~1,58 meq/kg) oraz wtórnych produktów oksydacji lipidów (0,09 mg/kg) w stopniu tożsamym do tego, jaki został uzyskany w próbie kontrolnej (150 ppm NaNO<sub>2</sub>).

Lin i in. [2011] testowali wpływ różnych stężeń ekstraktu z zielonej herbaty (GTE): 0,02%, 0,05%, 0,1%, 0,2% i 0,5% na barwę kiełbasy pepperoni. Autorzy uzyskali najwyższe wartości parametrów barwy (L\* a\* b\*) dla kiełbasy z dodatkiem 0,05% GTE w połączeniu z azotanem(III) wprowadzonym w ilości 0,009%. Lin i in. [2011] podali, że chociaż dodatek GTE (0,05%) do salami spowodował obniżenia wartości parametru TBARS, to już jego połączenie z azotynem (0,009%) nie okazało się tak skuteczne. Jak wcześniej sugerowano, połączenie ekstraktu roślinnego i azotynu może skutkować działaniem prooksydacyjnym. Hayes i in. [2013] zbadali działanie sproszkowanej pulpy pomidorowej dodanej w ilości 1,5 lub 3,0 g/100g w mielonce wieprzowej peklowanej różną mieszanką peklującą (0, 50 lub 100 mg/kg azotanu(III) sodu), stwierdzając wzrost wartości zarówno parametru a\*, jak i b\* barwy oraz prooksydacyjny wpływ kombinacji substancji konserwującej i sproszkowanej pulpy pomidorowej na składniki mielonki wieprzowej. Stwierdzili, że sproszkowana pulpa pomidorowa (3%) nadaje wyrobom mięsnym słodki smak oraz wpływa negatywnie na parametry tekstury, zmniejszając soczystość produktu. Likopen pochodzący z pulpy pomidorowej, pomimo pokładanej w nim nadziei, okazał się słabym przeciwutleniaczem.

Aquilani i in. [2018] z kolei badali wpływ ekstraktu pozyskanego z pestek winogron oraz ekstraktu z kasztanowca z hydroksytyrozolem z oliwy z oliwek na parametry barwy kiełbasy fermentowanej Cinta Senese. Autorzy wykazali, że dodatek ekstraktu z pestek winogron spowodował wzrost udziału barwy czerwonej w ogólnym tonie barwy wyrobu, co zdaniem autorów było prawdopodobnie efektem powstania Zn-protoporfiryny.

Sucu i Turp [2018] zaobserwowali wzrost wartości parametru a\* barwy w wyrobie sucuk po dodaniu ekstraktu z buraka (*Beta vulgaris*). Najwyższe wartości tego parametru zostały uzyskane w próbach fortyfikowanych ekstraktem w ilości 0,35%. Autorzy odnotowali również, że ekstrakt z buraków przyczynił się do obniżenia udziału barwy żółtej (b\*) w ogólnym tonie barwy i zwiększenia wartości parametru jasności (L\*) w ciągu pierwszych kilku dni przechowywania. Autorzy odnotowali, że chociaż *B. vulgaris* zawiera związki polifenolowe, to nie przyczyniły się one do obniżenia wartości wskaźnika TBARS podczas przechowywania wyrobu. Jednak analiza sensoryczna produktu z dodatkiem ekstraktu z buraków (0,12%, 0,24% i 0,35%) nie wykazała istotnych różnic w ocenianych parametrach w porównaniu z próbą kontrolną (150 mg/kg azotynu sodu) [Sucu i Turp 2018].

Sueprasarn i in. [2017] badali możliwości ekstraktu z karandy (*Carissa carandas* Linn), zaś Nowak i in. [2016] oceniali potencjał ekstraktów z liści wiśni (*Prunus cerasus* L.) i czarnej porzeczki (*Ribes nigrum* L.) jako dodatku do wyrobów mięsnych. Karanda jest rośliną pochodzącą z Tajlandii, której ciemnofioletowe owoce stanowią bogate źródło antocyjanów i witaminy C. Wyniki badań wykazały, że ekstrakt z antocyjanami z karandy nie przyczynił się do poprawy barwy kielbas surowo dojrzewających. Nie zahamował także procesu oksydacji lipidów podczas przechowywania kielbas. Autorzy zanotowali natomiast znaczny wzrost wartości wskaźnika TBARS w kielbasie, co mogło być wynikiem degeneracji antyoksydacyjnych związków pod wpływem czynników zewnętrznych takich jak światło i temperatura. W ocenie sensorycznej optymalne okazało się zastosowanie 0,5% (w/w) ekstraktu z karandy. Podobne wyniki eksperymentu uzyskali Nowak i in. [2016]. Naukowcy zaobserwowali, że dodatek *P. cerasus* i *R. nigrum* nie przyczynił się do zwiększenia parametru  $a^*$  barwy, zwiększył zaś istotnie zażółcenie kielbasy. Autorzy potwierdzili natomiast wpływ ekstraktów na redukcję dialdehydu malonowego (MDA) obserwowaną po 14 i 28 dniach chłodniczego przechowywania. Ekstrakt z liści *R. nigrum* wykazywał silniejsze działanie antyoksydacyjne aniżeli ekstrakt z liści *P. cerasus*, co było związane z istotnie wyższym stężeniem polifenoli obecnych w ekstrakcie z *R. nigrum* [Nowak i in. 2016].

Marazzeq i in. [2015] zauważyli, że ekstrakt z liści oliwnych nie daje efektów technologicznych osiągniętych przy użyciu azotanów(III). Autorzy przebadali różne proporcje ekstraktu i azotanów(III) w produkcji, stwierdzając że wraz z obniżaniem wielkości udziału azotanu(III) malał udział składowej czerwonej w ogólnym tonie barwy produktu. Próba, w której azotan(III) został w całości zastąpiony przez ekstrakt, cechowała się najniższą wartością parametru barwy czerwonej po 12 tygodniach przechowywania.

Kurcubić i in. [2014] stwierdzili, że stężenie ekstraktu roślinnego jest ważnym czynnikiem w stabilizowaniu reakcji utleniania składników produktu mięsnego. Autorzy przebadali farsze mięsne, które wzbogacali dodatkiem ekstraktów z *Kitaibelia vitifolia* o stężeniu 30,0 g/kg (3% w/v) i 12,5 g/kg (10% w/v). Naukowcy zauważyli, że dodatek 10% koncentratu w niższej dawce zapewnił większą ochronę przed utlenianiem niż dodatek 3% koncentratu w wyższej dawce. Wyciąg z *K. vitifolia* wykazywał w wyrobie większą aktywność antyoksydacyjną niż azotan(III). Dodatek ekstraktu roślinnego z *K. vitifolia* (12,5 g/kg) nie wpłynął istotnie na wyróżniki jakości sensorycznej produktu [Kurcubić i in. 2014].

Należy podkreślić, że zastąpienie azotanu(III) substancjami imitującymi nitrozylomioglobinę nie wywołuje w mięsie działania bakteriostatycznego i bakteriobójczego właściwego dla azotanu(III) sodu/potasu. Na aktywność bakteriobójczą azotanów wpływają czynniki, takie jak: stężenie soli, obróbka cieplna, różne składniki peklujące oraz kwasowość produktu [Govari i Pexara 2015]. Bakteriostatyczne właściwości azotanów(III) w peklowanych wyrobach mięsnych są związane z poziomem stresu oksydacyjnego wywołanego przez ONOO<sup>-</sup>/ONOOH. Toksyczny wpływ peroksynitrytu może wynikać z utleniania

tioli białkowych, lipidów membran komórkowych, zaburzenia biosyntezy cysteiny, argininy i białek żelazowo-siarkowych wchodzących w skład cząsteczek biologicznych [McLean i in. 2010]. Wiedza na temat mechanizmu oddziaływania azotanu(III) na drobnoustroje wciąż jest niepełna. Z uwagi na skalę produkcji i wielkość spożycia wyrobów peklowanych właśnie ta funkcja azotanu(III) wymaga szczególnego zainteresowania naukowców. W większości dostępnych źródeł stwierdza się, że jednym z bardziej prawdopodobnych mechanizmów antybotulinowej funkcji azotanu(III) sodu/potasu jest sekwestrowanie przez niego jonów żelaza niezbędnych do proliferacji i produkowania toksyny przez *Clostridium botulinum* [Duda 1998]. Azotan(III) przejawia fizjologicznie niekorzystną aktywność również w odniesieniu do *Listeria monocytogenes* i *Escherichia coli* [National Research Council 1981, Fang i in. 1985]. Bakterie, aby się rozmnażać, wytwarzają energię (ATP), jednocześnie chroniąc się przed utlenianiem związanym z syntezą ATP i innymi egzogennymi utleniaczami. Sytuację tę można zdefiniować za pomocą koncepcji równowagi FEDOX (Utlenianie–Funkcja–Energia–Obrona) [Majou 2015]. Jednak w zależności od poziomu stresu oksydacyjnego systemy obronne komórki stają się przeciążone, powodując skutki letalne. Ponadto w przypadku bakterii Gram-dodatnich (*Staphylococcus aureus* i *Clostridium botulinum*) dodatek azotanu zwiększa produkcję octanu, wywierającego szkodliwy wpływ na ATP bakterii w zakresie pH charakterystycznego dla produktów mięsnych dojrzewających, tj. od 5 do 6 [Majou i Souad 2018].

Surowce pochodzenia roślinnego są stosowane w technologii mięsa nie tylko ze względu na takie funkcje technologiczne, jak kształtowanie barwy, smakowości, tekstury, gdyż ekstrakty roślinne bogate w fenole, flawonoidy, garbniki i saponiny wykazują silne działanie przeciwdrobnoustrojowe, zwłaszcza *in vitro*. Riel i in. [2017] zaobserwowali, że zastosowanie w technologii kiełbas drobnorozdrobnionych ekstraktu z pietruszki w ilości 4,29 g/kg spowodowało istotne obniżenie tempa namnażania komórek *L. monocytogenes* w wyrobie. Zespół badawczy stwierdził, że zwiększenie ilości dodatku ekstraktu roślinnego spowodowało zwiększenie zawartości azotanów(V), które w wyniku działania bakterii denitryfikujących zostały zredukowane do azotanu(III). Należy zauważyć, że autorzy, dodając ekstrakt z pietruszki do farszu mięsnego faktycznie wzbogacali produkt o azotany pochodzenia roślinnego. Naturalną konsekwencją tego jest stwierdzenie przez badaczy, że najskuteczniejsze właściwości hamujące wzrost *L. monocytogenes* wykazywały próby z najwyższym ilościowym dodatkiem ekstraktu (4,29 g/kg).

Xi i in. [2011] zaobserwowali, że dodatek naturalnych ekstraktów roślinnych do modelowej kiełbasy wieprzowej spowodował zahamowanie wzrostu *L. monocytogenes*. Proszek żurawinowy, GTE, ekstrakt z pestek winogron oraz ekstrakty z wiśni, cytryny i limonki zwiększyły czystość mikrobiologiczną wyrobów poprzez obniżenie ogólnej liczby bakterii w produkcji. Bakhtiary i in. [2018] podali, że ekstrakt z *Satureja bachtiarica Bunge* w połączeniu z azotanem(III) sodu (100 lub 200 mg/kg) wykazuje silne działanie synergistycznie hamujące wzrost bakterii *Clostridium sporogenes* i *C. perfringens*.



Tabela 1. Użyteczność ekstraktów roślinnych do wytworzenia barwy i stabilizacji oksydacyjnej produktów mięsnych z obniżoną zawartością azotanu(III) poddanych obróbce cieplnej

Klasyfikacja	Nazwa wyrobu	Czas przechowywania (dni)	Materiał roślinny	Stężenie ekstraktu	Dodatek azotanu(III)	Wpływ na barwę i wyróżniki sensoryczne	Stabilność oksydacyjna	Źródło
Wieprzowe rozdrobnione	kielbasa drobno rozdrobniona	28	komercyjny ekstrakt z łodygi pietruszki	1,07–4,29 g/kg	80 ppm/0 ppm	– wartość parametru a* barwy w próbie z dodatkiem 2,14 i 4,29 g/kg ekstraktu była analogiczna jak w próbie kontrolnej – uzyskano akceptację konsumentką dla wyrobów z dodatkiem 2,14 i 4,29 g/kg ekstraktu	nie badano	Riel i in. 2017
	mielonka wieprzowa	14	sproszkowana pulpa pomidorowa	0%, 1,5%, 3%	0, 50 i 100 mg/kg	– korzystna z punktu widzenia właściwości fizykochemicznych i sensorycznych jest inkorporacja mielonki wieprzowej peklowanej 50 mg/kg azotanu(III) sodu sproszkowaną pulpą pomidorową w ilości 1,5% – zastosowanie sproszkowanej pulpy pomidorowej zwiększa wartość parametru a*, jednocześnie redukując parametr L*	↓	Hayes i in. 2013
	frankfurterki	60	ekstrakt z owoców dzikiej róży ( <i>R. canina</i> )	180 g ekstraktu wodnego (ekstrakt z 5 g i 30 g owocu)	0,1 g/kg 0,0 g/kg	– dodatek ekstraktu z <i>R. canina</i> spowodował obniżenie parametru L* barwy oraz wzrost wartości parametru a* barwy w odniesieniu do próby bez dodatku azotanu – brak analizy sensorycznej/oceny organoleptycznej	↑	Vossen i in. 2012
	kielbasa wieprzowa	28	ekstrakt z liści wiśni ( <i>Prunus cerasus</i> L.) ekstrakt z liści czarnej porzeczki ( <i>Ribes nigrum</i> L.)	0,5 g/100 g 1,0 g/100 g	1,8 g/100 g farszu mięsnego	– brak wpływu na parametr a* barwy – dodatek ekstraktów roślinnych nie wpłynął istotnie na wyróżniki sensoryczne produktu (smak, zapach, barwa) aż do 14. doby przechowalniczej	↑	Nowak i in. 2016
	kielbasa wieprzowa	po produkcji	liofilizowany ekstrakt z nasion annatto ( <i>Bixa Orellana</i> L.)	0,025%, 0,05%, 0,1%, 0,2%	150 ppm 37,5 ppm	– wzrost barwy czerwonej (a*) oraz żółtej (b*) w wyrobie, obniżenie parametru jasności (L*) barwy – brak analizy sensorycznej/oceny organoleptycznej	↑	Van Cuong i Thoa 2017

Wołowe rozdrobione	wołowa kielbasa pieczona	30	ekstrakt z <i>Berberis crataegina</i> L.	różne proporcje azotanu(III) sodu do ekstraktu (mg/kg) 30 : 30, 30 : 60, 30 : 90, 60 : 90, 60 : 60, 60 : 90, 90 : 30, 90 : 60, 90 : 90	120 mg/kg 90 mg/kg 60 mg/kg 30 mg/kg	– dodatek ekstraktu spowodował obniżenie wartości parametru L* barwy – dodatek ciemnoczerwonego ekstraktu wpłynął na wzrost wartości parametru a* barwy – najwyższe noty w analizie sensorycznej uzyskały próby fortyfikowane ekstraktem w ilości 90 mg/kg przy jednoczesnym zastosowaniu azotanu(III) w ilości 30 i 60 mg/kg	↑↓	Khaleghi i in. 2016
	kielbasa wołowa	30	suszone wytloki winogronowe	azotan(III) : ekstrakt (%) 60 : 1, 30 : 1, 60 : 2, 30 : 2	120 mg/kg 60 mg/kg 30 mg/kg	– dodatek suszonych wytlóków winogronowych w ilości 2% spowodował obniżenie wartości parametrów L* i b* – najwyższą ogólną akceptację panelu oceniającego uzyskała próba z 1% dodatkiem wytlóków i 60 mg/kg azotanu(III) sodu	↑	Riazi i in. 2016
	kielbasa wołowa	29	ekstrakt ze skórki granatu oraz łuski pistacji zielonej	azotan(III) [ppm] : ekstrakt 100 : 250, 80 : 500, 60 : 750, 40 : 1000, 0 : 1250	120 100 80 60 40 0	– zastosowanie ekstraktu z łuski pistacji zielonej spowodowało uzyskanie parametrów barwy tożsamyh z próbą kontrolną [(120 ppm azotanu(III))] – panel dokonujący oceny organoleptycznej nie zanotował wpływu redukcji azotanu(III) w recepturze wyrobu o 50% na wyróżniki barwy oraz smakowitości wyrobu	↑	Aliyari i in. 2020
	kielbasa wołowa	po procesie produkcyjnym	skórka z owocu pitaja – owoc czerwonego smoka ( <i>Hylocereus polyrhizus</i> ) ekstrakt	0% 20% 30% 40%	bez dodatku substancji konserwującej	– dodatek ekstraktu z <i>Hylocereus polyrhizus</i> w ilości 40% spowodował wzrost intensywności barwy czerwonej i żółtej na przekroju wyrobu – brak analizy sensorycznej/oceny organoleptycznej	↑	Manihuruka i in. 2017
	mortadela wołowa	12	ekstrakt z liści oliwnych (OLE)	240 mg OLE + azotan(III) w ilości: 80, 60, 40, 20	120 ppm/80 ppm, 60 ppm, 40 ppm, 20 ppm	– obserwowano wpływ synergistyczny dodatków na barwę. – najwyższą akceptowalność sensoryczną uzyskały warianty badawcze zawierające 80 i 60 ppm azotanu(III) oraz dodatek ekstraktu	nie badano	Marazzeq i in. 2015

Tabela 2. Użyteczność ekstraktów roślinnych jako naturalnego barwnika w produktach mięsnych z obniżoną zawartością azotanu(III) niepoddanych obróbce cieplnej

Klasyfikacja	Nazwa wyrobu	Czas przechowywania (dni)	Materiał roślinny	Stężenie ekstraktu	Dodatek azotanu(III)	Wpływ na barwę i wyróżniki sensoryczne	Stabilność oksydacyjna	Źródło
Wieprzowe rozdrobnione	kielbasa wieprzowa peklowana	5	fasola adzuki ( <i>Vigna angularis</i> )	0,05% 0,1%, 0,2%, 0,3%	0,008%	– 0,2% dodatek ekstraktu z fasoli adzuki hamował procesy oksydacyjne w peklowanej i niepeklowanej kielbasie – panel sensoryczny przyznał niższe noty w ocenie parametrów barwy oraz zapachu produktu inkorporowanego ekstraktem w stężeniu 0,2% – dodatek ekstraktu spowodował wzrost wartości parametru a* barwy o około 2 jednostki umowne w porównaniu z peklowana próbą kontrolną	↑	Jayawardana i in. 2011
	Nham – tajska fermentowana kielbasa wieprzowa	20	ekstrakt z karandy ( <i>Carissa carandas</i> Linn.)	0,5% (w/w), 0,5% + 125 ppm azotan(III)	125 ppm 0 ppm	– dodatek ekstraktu z karandy spowodował wzrost parametrów b* i L* barwy – zastosowanie 0,5% dodatku ekstraktu w połączeniu z azotanem(III) spowodowało wydłużenie trwałości przechowalniczej kielbas o 10 dni – brak istotnych różnic w ocenie sensorycznej kielbasy kontrolnej i doświadczalnej	↑	Sueprasarn i in. 2017
	pepperoni	76	ekstrakt zielonej herbaty	0,05%	0,009%	– obserwowano przeciwutleniające działanie ekstraktu zielonej herbaty oraz azotanu(III), jednakże połączenie 0,05% ekstraktu z 0,009% azotanem(III) przyspieszyło oksydację – brak silnego oddziaływania na barwę po dodaniu ekstraktu	↑↓	Lin i in. 2011

	chouriços – suszona na zimno, wędzona kiełbasa	30	czerwone wino, czerwone wino i czosnek	7,5%, 7,5% + 1%	150 ppm azotanu(III) 150 ppm azotanu(V) 75 ppm azotanu(III) i 75 ppm azotanu(V)	– obserwowano istotne obniżenie parametru a* barwy o ok. 4 j.u. w porównaniu do próby z azotanem – brak istotnych różnic w ocenie sensorycznej kiełbasy kontrolnej i doświadczalnej	Nie badano	Patarata i in. 2020
	Cinta Senese – kiełbasa sucho dojrzewająca	21	ekstrakt z pestek winogron i oliwek ekstrakt z kasztanowca i oliwek	10 g/kg	30 ppm 0 ppm	– panel sensoryczny przyznał niższe noty w ocenie parametrów barwy wyrobów z dodatkiem ekstraktów w porównaniu z próbami z azotanem	↑↓	Aquilani i in. 2018
Wołowe rozdrobnione	sucuk – fermentowana kiełbasa wołowa	84	ekstrakt z <i>Beta vulgaris</i>	0,12%, 0,24%, 0,35%	150 mg/kg 100 mg/kg 50 mg/kg 0 mg/kg	– dodatek ekstraktu z buraka spowodował wzrost wartości parametru a* barwy oraz obniżenie parametrów b* i L*	↑	Sucu i Turp 2018
	kiełbasa wołowa peklowana na sucho	30	katechiny zielonej herbaty ( <i>Camellia sinensis</i> L.)	azotan : katechiny mg/kg 100 : 300, 125 : 300	125 mg/kg 100 mg/kg 75 mg/kg	– dodatek ekstraktu spowodował obniżenie jasności prób	↑	Moawad i in. 2012

Patarata i in. [2020] odnotowali, że mieszanina czerwonego wina i czosnku wykazuje silne działanie przeciwbakteryjne wobec *C. sporogenes* i *Salmonella*. Podobne wyniki uzyskali Aquilani i in. [2018]. Autorzy zastosowali ekstrakty z pestek winogron i kasztanowca do wyprodukowania kiełbasy fermentowanej Cinta Senese i odnotowali, że liczebność bakterii patogennych: *E. coli*, *L. monocytogenes*, *Clostridium* spp., *Salmonella* spp. i *Staphylococcus* spp. utrzymywała się na niskim poziomie w trakcie 24-dniowego dojrzewania. Autorzy przypisali wysoką skuteczność antybakteryjną ekstraktów zawartości związków fenolowych.

Dodatek 1,56% ekstraktu z cząbrzu górskiego (*S. montana*) przyczynił się do zahamowania tworzenia się przetrwalników *C. perfringens* w kiełbasach typu mortadela [de Oliveira i in. 2011]. Podobne obserwacje odnotowali Khaledghi i in. [2016], którzy zanotowali, że ogólna liczba drobnoustrojów była szczególnie niska dla próbek z dodatkiem 90 mg/kg ekstraktu berberysu (*B. crataegina*) i azotanu (30 lub 60 mg/kg). Ponadto nie wykryto obecności *C. botulinum* w żadnej z prób przechowywanych 30 dni. Gyawali i Ibrahim [2014] wskazali, że różnice w składzie chemicznym i strukturalnym związków fenolowych mogą przyczyniać się do różnic we właściwościach antymikrobiologicznych ekstraktów roślinnych.

Nowak i in. [2016] zauważyli, że pomimo wysokiej zawartości polifenoli w ekstraktach z liści *P. cerasus* i *R. nigrum* ich dodatek do kiełbas wieprzowych nie spowodował zahamowania wzrostu bakterii psychrotrofowych i mezofilnych po 28 dniach przechowywania. Van Cuong i Thoa [2017] potwierdzili, że całkowita liczba drobnoustrojów i liczba bakterii z rodziny Enterobacteriaceae była niższa o jeden rząd logarytmiczny we wszystkich próbach z dodatkiem ekstraktu z nasion annato, niezależnie od użytej ilości. Autorzy stwierdzili, że ekstrakt z nasion annato wykazuje działanie bakteriobójcze. Dodatek ekstraktów z *K. vitifolia* do kiełbasy fermentowanej na sucho pomógł w zmniejszeniu liczby mikroflory patogennej (np. *P. vulgaris*, *Bacillus subtilis* i *Aspergillus niger*). Najsilniejszy efekt hamujący zaobserwowano przeciwko *E. coli* [Kurćubić i in. 2014].

## Podsumowanie

Azotany (III) i (V) są wielofunkcyjnymi dodatkami powszechnie stosowanymi w przemyśle mięsnym, w tym także w produkcji ekologicznej. Jednak ze względu na potwierdzony niekorzystny wpływ azotanów (III) i (V) na zdrowie człowieka istotne staje się poszukiwanie wszelkich sposobów na zmniejszenie ich spożycia. Ekstrakty roślinne wykazują niemały potencjał jako alternatywa dla azotanów (III) i (V) ze względu na silne działanie antyoksydacyjne i antybakteryjne, a także barwotwórcze. Powinny być stosowane w stężeniach eksperymentalnie zoptymalizowanych pod względem pożądaných efektów technologicznych, funkcjonalnych i akceptacji konsumenckiej. Poziom akceptacji kon-

sumenckiej będący fundamentalną cechą determinującą sukces lub porażkę rynkową produktu nastęrcza badaczom niejakiich trudności. Przyczyną jest dynamizm zmian zachodzących na rynku żywności powodowanych przez wiele czynników, takich jak: globalizacja, migracja ludności, moda i trendy w żywieniu, nowa wiedza na temat bezpieczeństwa żywności, zmiany demograficzne itp. W tym celu można wykorzystać metodę Kano użyteczną w fazie wprowadzania innowacyjnych produktów mięsnych powstających według technologii ze zmodyfikowaną fazą peklowania.

Ekstrakty wykazują bardzo zróżnicowane właściwości ze względu na pochodzenie, stężenie i wielkość dodatku. Najczęściej oddziaływanie jest jednowymiarowe, tj. bakteriostatyczne, bakteriobójcze, przeciwutleniające lub barwiące. Dlatego przy sporządzaniu mieszanin należy zwrócić uwagę na fakt synergistycznego (np. w przypadku buraków, wyłoków z czerwonych winogron i katechin z zielonej herbaty) lub antagonistycznego (np. kwaśnica i zielona herbata) oddziaływania ekstraktów roślinnych między sobą i z azotanem(III). W związku z tym w badaniach wstępnych ekstraktów należy określić nie tylko potencjał przeciwutleniający i antybakteryjny, ale również zbadać skutki połączenia z azotanem(III).

Generalnie ekstrakty roślinne w produktach mięsnych modyfikują parametry jasności barwy ( $L^*$ ), zwiększają udział składowej czerwonej ( $a^*$ ) i żółtej ( $b^*$ ) w ogólnym tonie barwy. Niestety, jakość barwy często ulega pogorszeniu podczas przechowywania wyrobów. W wielu przypadkach zastosowanie ekstraktów roślinnych wpływa istotnie na obniżenie ilości mikroorganizmów obecnych w produkcie, przyczyniając się do poprawy bezpieczeństwa zdrowotnego i stabilności mikrobiologicznej w trakcie przechowywania wyrobów mięsnych.

Nie można zapominać, że o końcowej jakości mikrobiologicznej wyrobów mięsnych nie powinny decydować użyte dodatki funkcjonalne, ale przede wszystkim należyta higiena surowców i produkcji oraz prawidłowo przeprowadzona obróbka cieplna i warunki przechowywania. W większości badanych produktów dodatek ekstraktu roślinnego nie wpłynął negatywnie na właściwości sensoryczne produktów.

Przeprowadzony przegląd aktualnej wiedzy w dostępnej literaturze naukowej pokazuje, że możliwe jest ograniczenie stosowania dodatku azotanu(III) w technologii wyrobów mięsnych pozwalające osiągnąć jakość produktu na poziomie uzyskiwanym przy stosowaniu samego azotanu(III).

Główna trudność technologii ze zmodyfikowaną fazą peklowania polega na doborze stężenia ekstraktu roślinnego, wielkości jego dodatku, mieszania ekstraktów i sposobu wprowadzania do produktu tak, aby osiągnąć pożądany efekt technologiczny i wysoki poziom akceptacji konsumenckiej. Możliwości predykcji w tym zakresie są bardzo ograniczone, wręcz niemożliwe. Dlatego poszerzenie wiedzy w tym obszarze wymaga systematycznego prowadzenia doświadczeń technologicznych, których wyniki pozwolą na identyfikację ekstraktów roślinnych pozwalających na optymalne kształtowanie jakości produktów mięsnych.

## Piśmiennictwo

- Abdulrazak S., Otie D., Oniwapele Y.A., 2014. Concentration of nitrate and nitrite in some selected cereals sourced within Kaduna state, Nigeria. *Online J. Anim. Feed Res.* 4, 37–41
- Alahakoon A.U., Jayasena D.D., Ramachandra S., Jo C., 2015. Alternatives to nitrite in processed meat: Up to date. *Trends Food Sci. Technol.* 45, 37–49, <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2015.05.008>
- Aliyari P., Kazaj F.B., Barzegar M., Gavlighi H.A., 2020. Production of functional sausage using pomegranate peel and pistachio green hull extracts as natural preservatives. *J. Agric. Sci. Technol.* 22, 159–172
- Anyżewska A., Wawrzyniak A., 2014. Evaluating adult dietary intakes of nitrate and nitrite in Polish households during 2006–2012. *Rocz. Państw. Zakł. Hig.* 65, 107–111
- Aquilani C., Sirtori F., Flores M., Bozzi R., Leuret B., Pugliese C., 2018. Effect of natural antioxidants from grape seed and chestnut in combination with hydroxytyrosol, as sodium nitrite substitutes in Cinta Senese dry-fermented sausages. *Meat Sci.* 145, 389–398, <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2018.07.019>
- Bakhtiary F., Sayevand H.R., Khaneghah A.M., Haslberger A.G., Hosseini H., 2018. Antibacterial efficacy of essential oils and sodium nitrite in vacuum processed beef fillet. *Appl. Food Biotechnol.* 5, 1–10, <https://doi.org/10.22037/afb.v5i1.17118>
- Bedale W., Sindelar J.J., Milkowski A.L., 2016. Dietary nitrate and nitrite. Benefits, risks, and evolving perceptions. *Meat Sci.* 120, 85–92, <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2016.03.009>
- van den Brand A.D., Beukers M., Niekerk M., van Donkersgoed G., van der Aa M., van de Ven B., Bulder A., van der Voet H., Sprong C.R., 2020. Assessment of the combined nitrate and nitrite exposure from food and drinking water: application of uncertainty around the nitrate to nitrite conversion factor. *Food Addit. Contamin., Part A*, 37, 4, 568–582, <https://doi.org/10.1080/19440049.2019.1707294>
- Bryan N.S., van Grinsven H., 2013. The role of nitrate in human health. [W:] L. Donald (red.), *Advances in Agronomy*, Sparks, Elsevier Inc., 153–182, <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-407247-3.00003-2>
- Colla G., Kim H.J., Kyriacouc M.C., Roupbaeld Y., 2018. Nitrate in fruits and vegetables. *Sci. Hortic.* 237, 221–238, <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2018.04.016>
- Correia M., Barroso Â., Barroso M.F., Soares D., Oliveira M.B.P.P., Delerue-Matos C., 2010. Contribution of different vegetable types to exogenous nitrate and nitrite exposure. *Food Chem.* 120, 960–966, <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.11.030>
- Cui H., Gabriel A.A., Nakano H., 2010. Antimicrobial efficacies of plant extracts and sodium nitrite against *Clostridium botulinum*. *Food Control* 21, 1030–1036, <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2009.12.023>
- van Cuong T., Thoa N.T., 2017. Effects of partial replacement of nitrite by annatto (*Bixa orellana* L.) seed powder on the properties of pork sausages. *J. Sci. Technol.* 55, 178–187, <https://doi.org/10.15625/0866-708X/55/2/8578>
- DeMartino A.W., Kim-Shapiro D.B., Patel R.P., Gladwin M.T., 2019. Nitrite and nitrate chemical biology and signalling. *Br. J. Pharmacol.* 176, 228–245, <https://doi.org/10.1111/bph.14484>
- Djekic I., Ilic J., Raquel P.F., Tomasevic G.I., 2020. Can we understand food oral processing using Kano model? Case study with confectionery products. *J. Texture Stud.* 51, 861–869, <https://doi.org/10.1111/jtxs.12550>
- Duda Z., 1998. Wybrane zagadnienia stosowania azotynu w technologii mięsa. *Zywn. Nauk. Technol. J.* 16, 5–43.
- Fang Ch.-S., Post L.S., Solberg M., 1985. Antimicrobial effect and disappearance of sodium nitrite in *Staphylococcus aureus* cultures. *J. Food Sci.* 50, 1412–1416, <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1985.tb10489.x>
- Gálvez A., Abriouel H, López RL, Ben Omar N., 2007. Bacteriocin-based strategies for food biopreservation. *Int. J. Food Microbiol.* 120, 51–70, <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2007.06.001>

- Govari M., Pexara A., 2015. Nitrates and nitrites in meat products. *J. Hell. Vet. Med. Soc.* 66, 127–140.
- Gyawali R., Ibrahim S.A., 2014. Natural products as antimicrobial agents. *Food Control* 46, 412–429, <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2014.05.047>
- Habermeyer M., Roth A., Guth S., Diel P., Engel K.H., Epe B., Furst P., Heinz V., Humpf H.U., Joost H.G., 2015. Nitrate and nitrite in the diet: How to assess their benefit and risk for human health. *Mol. Nutr. Food Res.* 59, 106–128, <https://doi.org/10.1002/mnfr.201400286>
- Hayes J.E., Canonico I., Allen P., 2013. Effects of organic tomato pulp powder and nitrite level on the physicochemical, textural and sensory properties of pork luncheon roll. *Meat Sci.* 95, 755–762, <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2013.04.049>
- Honikel K.O., 2008. The use and control of nitrate and nitrite for the processing of meat products. *Meat Sci.* 78, 68–76, <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2007.05.030>
- Jakszyn P., González C.A., 2006. Nitrosamine and related food intake and gastric and oesophageal cancer risk: a systematic review of the epidemiological evidence. *WJG* 12, 27, 4296.
- Jayawardana B.C., Hirano T., Han K.H., Ishii H., Okada T., Shibayama S., Fukushima, M., Sekikawa M., Shimada K.I., 2011. Utilization of adzuki bean extract as a natural antioxidant in cured and uncured cooked pork sausages. *Meat Sci.* 89, 150–153, <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2011.04.005>
- Khaleghi A., Khosravi-Darani K., Rezaei K., 2016. Combined use of black barberry (*Berberis crataegina* L.) extract and nitrite in cooked beef sausages during the refrigerated storage. *J. Agric. Sci. Technol.* 18, 601–614.
- Kim T.K., Hwang K.E., Song D.H., Ham Y.K., Kim Y.B., Paik H.D., Choi Y.S., 2019. Effects of natural nitrite source from Swiss chard on quality characteristics of cured pork loin. *Asian Australas. J. Anim. Sci.* 32, 1933–1941, <https://doi.org/10.5713/ajas.19.0117>
- Kurčić V.S., Mašković P.Z., Vujić J.M., Vranić D.V., Vesković-Moračanin S.M., Okanović Đ. G., Lilić S.V., 2014. Antioxidant and antimicrobial activity of *Kitaibelia vitifolia* extract as alternative to the added nitrite in fermented dry sausage. *Meat Sci.* 97, 459–467, <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2014.03.012>
- Lidder S., Webb A.J., 2012. Vascular effects of dietary nitrate (as found in green leafy vegetables and beetroot) via the nitrate-nitrite-nitric oxide pathway. *Br. J. Clin. Pharmacol.* 75, 677–696, <https://doi.org/10.1111/j.1365-2125.2012.04420.x>
- Lin Y., Huang M., Zhou G., Zou Y., Xu X., 2011. Prooxidant effects of the combination of green tea extract and sodium nitrite for accelerating lipolysis and lipid oxidation in pepperoni during storage. *J. Food Sci.* 76, 694–700, <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2011.02187.x>
- Majou D., 2015. Alzheimer's disease: Origins, mechanisms, people at risk and prevention by DHA (omega-3 fatty acid). Actia Ed., Paris, France.
- Majou D., Souad C., 2018. Mechanisms of the bactericidal effects of nitrate and nitrite in cured meats. *Meat Sci.* 145, 273–284, <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2018.06.013>
- Makała H., 2019. Żywność ekologiczna i czynniki jej wyboru przez konsumentów. *Zesz. Nauk. Turystyka i Rekreacja* 1, 151–166
- Manihuruka F.M., Suryatib T., Arief I.I., 2017. Effectiveness of the red dragon fruit (*Hylocereus polyrhizus*) peel extract as the colorant, antioxidant, and antimicrobial on beef sausage. *Media Peternak.* 40, 47–54, <https://doi.org/10.5398/medpet.2017.40.1.47>
- Marazzeq A.K., Haddadin M., Abdullah M.A.L., Angor M., 2015. Effect of nitrite substitution with olive oil leaves extract on color and sensory properties of beef mortadella. *J. Agric. Sci.* 7, 120–128, <https://doi.org/10.5539/jas.v7n12p120>
- McLean S., Bowman L.A., Sanguinetti G., Read R.C., Poole R.K., 2010. Peroxynitrite toxicity in *Escherichia coli* K12 elicits expression of oxidative stress responses and protein nitration and nitrosylation. *J. Biol. Chem.*, 285, 20724–20731, <https://doi.org/10.1074/jbc.M109.085506>
- Milkowski A., Garg H.K., Coughlin J.R., Bryan N.S., 2010. Nutritional epidemiology in the context of nitric oxide biology: A risk-benefit evaluation for dietary nitrite and nitrate. *Nitric Oxide* 22, <https://doi.org/10.1016/j.niox.2009.08.004>



- Moawad R.K., Abozeid W.M., Nadir A.S., 2012. Effect of nitrite level and tea catechins on residual nitrite and quality indices of raw-cured sausages. *J. Appl. Sci. Res.* 8, 815–822.
- National Research Council, 1981. The health effects of nitrate, nitrite, and N-nitroso compounds. 1981. Part 1 of a 2-Part Study by the Committee on Nitrite and Alternative Curing Agents in Food. The National Academies Press, Washington, DC, 1–13, <https://doi.org/10.17226/19738>
- Nowak A., Czyżowska A., Efenberger M., Krala L., 2016. Polyphenolic extracts of cherry (*Prunus cerasus* L.) and blackcurrant (*Ribes nigrum* L.) leaves as natural preservatives in meat products. *Food Microbiol.* 59, 142–149, <https://doi.org/10.1016/j.fm.2016.06.004>
- de Oliveira T.L.C., de Araújo Soares R., Ramos E.M., das Graças Cardoso M., Alves E., Piccoli R.H., 2011. Antimicrobial activity of Satureja montana L. essential oil against *Clostridium perfringens* type A inoculated in mortadella-type sausages formulated with different levels of sodium nitrite. *Int. J. Food Microbiol.* 144, 546–555, <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2010.11.022>
- Patarata L., Martins S., Silva J.A., Fraqueza M.J., 2020. Red wine and garlic as a possible alternative to minimize the use of nitrite for controlling *Clostridium sporogenes* and *Salmonella* in a cured sausage: Safety and sensory implications. *Foods* 9, 206, <https://doi.org/10.3390/foods9020206>
- Qiu X., Wu V.C.H., 2007. Evaluation of *Escherichia coli* o157:h7, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella typhimurium* and *Staphylococcus aureus* in ground beef with cranberry concentrate by thin agar layer method. *J. Rapid Methods Autom. Microbiol.* 15, 282–294, <https://doi.org/10.1111/j.1745-4581.2007.00098.x>
- Ranasinghe R., Marapana R., 2018. Nitrate and nitrite content of vegetables: A review. *J. Pharmacogn. Phytochem.* 7, 322–328.
- Rozporządzenie Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) NR 1333/2008 z dnia 16 grudnia 2008 r. w sprawie dodatków do żywności, <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/?uri=celex%3A32008R1333> (dostęp 30 lipca 2021).
- Rezaei M., Fani A., Moini A.L., Mirzajani P., Malekirad A.A., Rafiei M., 2014. Determining nitrate and nitrite content in beverages, fruits, vegetables, and stews marketed in Arak. *Iran Hindawi Publ. Corp. Int. Sch. Res. Not.*, 1–5, <https://doi.org/10.1155/2014/439702>
- Riazi F., Zeynali F., Hoseini E., Behmadi H., Savadkoobi S., 2016. Oxidation phenomena and color properties of grape pomace on nitrite-reduced meat emulsion systems. *Meat Sci.* 121, 350–358, <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2016.07.008>
- Riel G., Boulaaba A., Popp J., Klein G., 2017. Effects of parsley extract powder as an alternative for the direct addition of sodium nitrite in the production of mortadella-type sausages-Impact on microbiological, physicochemical and sensory aspects. *Meat Sci.* 131, 166–175, <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2017.05.007>
- Schullehner J., Hansen B., Thygesen M., Pedersen C.B., Sigsgaard T., 2018. Nitrate in drinking water and colorectal cancer risk: A nationwide population-based cohort study. *Int. J. Cancer* 143, 73–79, <https://doi.org/10.1002/ijc.31306>
- Sebranek J.G., Bacus J.N., 2007. Cured meat products without direct addition of nitrate or nitrite: What are the issues? *Meat Sci.* 77, 136–147, <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2007.03.025>
- Sucu C., Turp G.Y., 2018. The investigation of the use of beetroot powder in Turkish fermented beef sausage (sucuk) as nitrite alternative. *Meat Sci.* 140, 158–166, <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2018.03.012>
- Sueprasarn J., Reabroy S., Pirak T., 2017. Antioxidant properties of Karanda (*Carissa carandas* Linn.) extracts and its application in Thai traditional fermented pork sausage (Nham). *Int. Food Res. J.* 24, 1667–1675.
- Szczerbiński R., Karczewski J., 2011. Oszacowanie pobrania przez ludność województwa podlaskiego wybranych dozwolonych substancji konserwujących stosowanych w przemyśle spożywczym. *Roczn. PZH* 62, 1, 33–36.
- Tamme T., Reinik M., Roasto M., 2010. Nitrates and nitrites in vegetables: Occurrence and health risks. [W:] R.R. Watson, V.R. Preedy (red.), *Bioactive Foods in Promoting Health: Fruits*

- and Vegetables, 1st ed., Elsevier Inc., 307–321, <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-374628-3.00021-9>
- Topçu A., Topçu A.A., Saldamli I., Yurttagül M., 2006. Determination of nitrate and nitrite content of Turkish cheeses. *Afr. J. Biotechnol.* 5, 1411–1414
- Tudor L., Mitrănescu E., Tudor L., Furnaris F., 2007. Assessment of nitrate and nitrite content of Romanian traditional cheese *Lucrări Stiințifice. Med. Vet.* XL, 694–699
- Vossen E., Utrera M., de Smet S., Morcuende D., Estévez M., 2012. Dog rose (*Rosa canina* L.) as a functional ingredient in porcine frankfurters without added sodium ascorbate and sodium nitrite. *Meat Sci.* 92, 451–457, <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2012.05.010>
- Ward M.H., Jones R.R., Brender J.D., de Kok T.M., Nolan B.T., Villanueva C.M., van Breda S.G., 2018. Drinking water nitrate and human health: An updated review. *Int. J. Environ. Res. Public Health* 15, 73–79, <https://doi.org/10.3390/ijerph15071557>
- Wawrzyniak A., Hamułka J., Gołębiowska M., 2004. Ocena zawartości azotanów (V) i azotanów (III) w wybranych warzywach uprawianych konwencjonalnie i ekologicznie. *Bromat. Chem. Toksykol.* 4, 341–345
- WHO, 2016. Nitrate and nitrite in drinking-water. Background Document for Development of WHO Guidelines for Drinking-Water Quality. WHO, Geneva, 1–33.
- Xi Y., Sullivan G.A., Jackson A.L., Zhou G.H., Sebranek J.G., 2011. Use of natural antimicrobials to improve the control of *Listeria monocytogenes* in a cured cooked meat model system. *Meat Sci.* 88, 503–511, <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2011.01.036>
- Zamrik M.A., 2013. Determination of nitrate and nitrite contents of syrian white cheese. *Pharmacol. Pharm.* 4, 171–175, <https://doi.org/10.4236/pp.2013.42024>

## ROZDZIAŁ 5

Agnieszka Kaliniak-Dziura, Piotr Skąlecki,  
Mariusz Florek, Piotr Domaradzki

# Żywnościowa rola lipidów ryb w profilaktyce i leczeniu chorób cywilizacyjnych

## Wstęp

W ostatnich latach obserwuje się rosnące zainteresowanie Polaków zdrowym stylem życia, w tym także pozytywne zmiany w ich preferencjach żywieniowych. Z jednej strony maleje zaufanie konsumentów do żywności konwencjonalnej, z drugiej natomiast rośnie znaczenie racjonalnego żywienia, które warunkuje dobry stan zdrowia. W związku z tym na rynku poszukiwana jest żywność postrzegana jako zdrowa, nisko przetworzona, a jednocześnie wyróżniająca się pożądanymi właściwościami sensorycznymi.

Ryby są szczególnie zalecane w diecie ze względu na wysoką wartość odżywczą [FAO 2010], jak również dużą rolę w zapobieganiu i łagodzeniu przebiegu wielu chorób, w tym cywilizacyjnych [Wcisło i Rogowski 2006]. Pomimo niekwestionowanych korzyści związanych ze spożyciem ryb i przetworów rybnych, ich konsumpcja w Polsce w porównaniu z innymi krajami europejskimi jest nadal bardzo niska. Wskazuje na to bilansowe spożycie ryb i owoców morza w roku 2018, które wyniosło zaledwie 12,3 kg/osobę, podczas gdy przeciętne spożycie ryb na świecie wynosi rocznie 20,4 kg/osobę [Hryszko 2019], zaś w krajach UE nawet 24,36 kg na mieszkańca [EU 2020].

Skutecznym działaniem mającym na celu zwiększenie spożycia ryb wśród Polaków może być promocja ryb krajowej akwakultury, jak również dostarczenie rzetelnych informacji o ich walorach odżywczych i prozdrowotnych.

## Ogólna charakterystyka lipidów ryb

Wartość odżywcza ryb wynika z wysokiej strawności i przyswajalności zawartego w nich białka, tłuszczów o znaczeniu funkcjonalnym, a także witamin i składników mineralnych [Roos i in. 2007a, Roos i in. 2007b, Szymandera-Buszkowska i in. 2008, Polak-Juszczak i Adamczyk 2009, Bouriga i in. 2010, Wel-

comme i in. 2010, Aberoumand 2012, Borawska i in. 2015]. Spośród wymienionych składników obecnych w rybach niewątpliwie do najbardziej korzystnych dla zdrowia człowieka zaliczyć należy lipidy. Zawierają one wielonienasycone kwasy tłuszczowe n-3, których właściwości można wykorzystać do zapobiegania i hamowania rozwoju wielu chorób, przede wszystkim układu krążenia, ale także cukrzycy typu II, nowotworów czy alergii [Marciniak-Łukasiak 2011].

Tłuszcz ryb magazynowany jest przede wszystkim w jadalnych mięśniach i wątrobie [Kandemir i Polat 2007], ale znaczna jego ilość występuje także w ikrze [Al-Sayed Mahmoud i in. 2008]. W tabeli 1 przedstawiono zawartość tłuszczu w różnych tkankach ryb na przykładzie pstrąga tęczowego.

Tabela 1. Zawartość tłuszczu [%] w różnych tkankach pstrąga tęczowego

Tkanka	Tłuszcz	Źródło
Wątroba*	16,01 ± 0,05	Kandemir i Polat 2007
Ikra	7,55 ± 1,82	Skałecki i in. 2020
Tkanka mięśniowa	5,31 ± 1,54	
Skóra	13,12 ± 0,20	Shahiri Tabarestani i in. 2012
Kości	18,29 ± 0,10	

\* Wartości dotyczą surowca z sezonu letniego

Tabela 2. Zawartość tłuszczu [%] w filetach wybranych gatunków ryb chudych, średnio tłustych i tłustych

Grupa	Gatunek	Tłuszcz	Źródło
Ryby chude	sandacz	0,34	Grela i in. 2010
	okoń*	0,29	Skałecki i in. 2013a
	szczupak	0,22	Grela i in. 2010
Ryby średnio tłuste	karp	2,41	Grela i in. 2010]
	pstrąg tęczowy	4,39	Łuczyńska i in. 2011
Ryby tłuste	łosoś	11,57	Łuczyńska i in. 2011
	węgorz**	10,54	Salma i Missaoui 2013

\* Wartości dotyczą ryb pozyskanych w sezonie jesiennym

\*\* Wartości dotyczą ryb pozyskanych w sezonie zimowym

Zawartość lipidów w tkance mięśniowej ryb może wynosić od poniżej 1% do ponad 30% [Kołakowska i Kołakowski 2001]. Stąd też, ze względu na udział tłuszczu, można je zaklasyfikować do następujących grup:

- chude – do 2%;
- średnio tłuste – 2–7%;
- tłuste – 7–15%;
- bardzo tłuste – > 15% [PN-A/86770:1999, Sikorski 2004].

W tabeli 2 przedstawiono udział tłuszczu w filetach wybranych gatunków ryb chudych, średniotłustych i tłustych konsumowanych w Polsce.

W mięsie ryb chudych zawartość tłuszczu jest niewielka i przeważnie stała, a jest on głównie magazynowany w wątrobie. W przypadku ryb tłustych, rezerwy lipidów znajdują się pod skórą oraz w mięśniach „czerwonych”, stąd też ich udział w ciągu roku ulega znacznym wahaniom [Kołakowska i Kołakowski 2001]. Niemniej jednak to właśnie w rybach tłustych (i średnio tłustych) występuje tłuszcz o najbardziej cenionym składzie. Charakteryzuje się on niską zawartością kwasów tłuszczowych nasyconych ( $\leq 30\%$  ogólnej zawartości) oraz wysokim udziałem kwasów tłuszczowych wielonienasyconych, głównie z rodziny n-3 [Piironen i in. 2002].

Zarówno w przypadku ryb chudych, jak i tłustych, rzeczywista zawartość tłuszczu decyduje o technologicznych właściwościach mięsa *post mortem* [Huss 1995]. Tłuszcz odgrywa ważną rolę w kształtowaniu smaku, zapachu i aromatu mięsa ryb podczas ich przygotowania i konsumpcji [Šimat i in. 2015]. Wpływa na teksturę mięsa ryb, w tym twardość [Hyldig i Nielsen 2001] oraz smakowość i soczystość [Fallah i in. 2011].

Tłuszcz ryb charakteryzuje wysoka liczba jodowa i niska temperatura topnienia, świadczące o dużym stopniu nienasylenia lipidów. W odróżnieniu od innych tłuszczów pochodzenia zwierzęcego, tłuszcz rybny po wytopieniu jest płynny. Lipidy ryb w głównej mierze składają się z triacylogliceroli oraz fosfolipidów, o różnym udziale kwasów tłuszczowych nasyconych (SFA, ang. saturated fatty acids), jednonienasyconych (MUFA, ang. monounsaturated fatty acids) i przede wszystkim – wielonienasyconych (PUFA, ang. polyunsaturated fatty acids), wśród których w relatywnie dużej ilości występują formy długołańcuchowe n-3 (n-3 LC-PUFA, ang. long-chain polyunsaturated fatty acids), w tym m.in. kwas eikozapentaenowy (EPA, ang. eicosapentaenoic acid) (C20:5n-3) i dokozaheksaenowy (DHA, ang. docosahexaenoic acid) (C22:6n-3) oraz występujący w mniejszych ilościach (ok. 1% ogółu wszystkich kwasów) kwas dokozaapentaenowy (DPA, ang. docosapentaenoic acid) (C22:5n-3) [Brzozowska 1998, Kołakowska i Kołakowski 2001]. Zawartość kwasów LC-PUFA w lipidach ryb może sięgać nawet 40% wszystkich kwasów, podczas gdy w tłuszczu ssaków występują one bardzo rzadko [Huss 1995].

Tłuszcz ryb zawiera stosunkowo mało cholesterolu, co ma szczególnie znaczenie w diecie osób ze schorzeniami układu krążenia. Jego zawartość w 100 g ryb waha się od 49 do 92 mg i jest ok. 5-krotnie niższa w porównaniu z taką samą porcją masła (250 mg) oraz żółtka jaja (300 mg). Ponadto zawartość cholesterolu w rybach nie zależy od zawartości tłuszczu [Brzozowska 1998]. Na uwagę zasługuje także wysoka przyswajalność tłuszczu ryb, wynosząca ok. 97% [Konieczny 2010].

Udział tłuszczu i profil kwasów tłuszczowych zależy u ryb od uwarunkowań osobniczych, takich jak: gatunek, wielkość oraz dojrzałość płciowa, cykl reprodukcyjny, faza rozwoju, rodzaj i topograficzne pochodzenie tkanek – brzuszna lub grzbietowa część ciała oraz czynników środowiskowych (metoda hodowli, żywienie, sezon, środowisko życia oraz zależności troficzne) [Huss 1995, Alasalvar i in. 2002, Steffens 2006, Ugoala i in. 2008, Pirestani i in. 2010, Li i in. 2011, Sutharshiny i Sivashanthini 2011, Prato i Biandolino 2012]. Ryby słodkowodne charakteryzują się mniejszą zawartością kwasów z grupy n-3 w porównaniu z morskimi. Ponadto ryby żyjące w zimnych wodach zawierają większą ilość kwasów nienasyconych w porównaniu z rybami żyjącymi w wodach ciepłych [Jankowska i in. 2003]. Dużą rolę w kształtowaniu profilu odgrywa też wiek ryb, gdyż z każdym kolejnym rokiem życia tracą one zdolność do koncentracji kwasu DHA w mięśniach [Shin i in. 2010].

O udziale i jakości tłuszczu w bardzo dużej mierze decyduje pożywienie ryb, którym może być zarówno pokarm naturalny, jak i stosowane w żywieniu ryb hodowlanych zbilansowane mieszanki paszowe. Stąd też pomiędzy rybami pochodzącymi z hodowli oraz z łowisk naturalnych można stwierdzić znaczące różnice w zawartości tłuszczu. W tabeli 3 przedstawiono zawartość lipidów w mięsie wybranych gatunków ryb w zależności od intensywności chowu. Wykazano, że w mięsie hodowlanych szczupaków zawartość tłuszczu była ponad 10-krotnie większa (2,40%), w porównaniu z dziko żyjącymi osobnikami tego gatunku (0,19%) [Jankowska i in. 2008]. Ryby pochodzące z hodowli w porównaniu z rybami dziko żyjącymi zawierają też więcej kwasów n-6, co spowodowane jest wprowadzaniem do pasz olejów roślinnych (zasobnych w kwas linoowy – C18:2n-6) [Grigorakis 2007, Busetto i in. 2008]. Na udział oraz skład lipidów może również wpływać systemem chowu. Osobniki żywione intensywnie charakteryzują się wyższą, w porównaniu z osobnikami z chowu ekstensywnego, koncentracją tłuszczu w tkance mięśniowej przy zbliżonym udziale białka [Skąlecki i in. 2013b].

Tabela 3. Zawartość tłuszczu [%] w mięsie wybranych gatunków ryb w zależności od intensywności chowu

Gatunek	Chów	Tłuszcz	Źródło
Karp	ekstensywny	2,07	Ljubojević i in. 2013
	intensywny	3,19	
Lin	ekstensywny	0,79	Ljubojević i in. 2014
	intensywny	3,3–3,32	
Pstrąg tęczowy	ekstensywny	3,13	Skąlecki i in. 2013b
	intensywny	5,39	
Sandacz	ekstensywny	1,46	Jankowska i in. 2003
	intensywny	2,87	

## Procesy oksydacyjne lipidów ryb

Surowce rybne, zwłaszcza tłuste, są bardzo wrażliwe na niekorzystne zmiany zachodzące w czasie ich przechowywania [Domiszewski 2012]. Bardzo szybko ulegają niekorzystnym przemianom, zarówno o charakterze mikrobiologicznym, jak i chemicznym. Decydują o tym różne czynniki fizyczne i chemiczne, do których można zaliczyć wysoką aktywność wody, neutralne pH, obecność wolnych aminokwasów i enzymów autolitycznych [Chaijan i in. 2006, Jeyasekaran i in. 2006, Etemadi i in. 2013].

Tłuszcze stanowią ważny element diety człowieka i mają duży wpływ na prawidłowe funkcjonowanie organizmu. Dlatego też powinny odznaczać się możliwie jak najwyższą stabilnością oksydacyjną i jak najmniejszą zawartością szkodliwych dla zdrowia wtórnych produktów oksydacji wielonienasyconych kwasów tłuszczowych [Cichosz i Cieczot 2011]. Przemiany z udziałem białek i lipidów zachodzące w czasie przechowywania ryb zmniejszają ich wartość odżywczą i sensoryczną, przyczyniając się finalnie do obniżenia jakości. Podatność frakcji lipidowej tkanki mięśniowej na tego typu przemiany zależy m.in. od gatunku, rodzaju mięśnia, rodzaju i ilości tłuszczu dostarczanego w paszy, a także kondycji i stanu zdrowia zwierzęcia w chwili uboju [Morrissey i in. 1998]. Zmiany zachodzące we frakcji lipidowej obejmują procesy lipolityczne, oksydacyjne oraz interakcje pomiędzy produktami powstającymi w czasie tych procesów z innymi związkami, np. z białkami [Pacheco-Aguilar i in. 2000, Masnyom 2011].

Powstałe w wyniku utleniania lipidów ryb nadtlutki stanowią pierwotne produkty utleniania. Ulegają one następnie rozkładowi do kolejnych związków (kwasów karboksylowych o krótszych łańcuchach, alkoholi, aldehydów, ketonów i węglowodorów). Niektóre z nich, zwane wtórnymi produktami oksydacji lipidów, odpowiadają za wykształcenie pożądanego aromatu świeżej ryby, inne zaś za powstawanie niepożądanego smaku i zapachu, charakterystycznego dla ryb nieświeżych, co jest główną przyczyną obniżenia jakości ryb [Lie 2001, Turner i in. 2006, Malinowska-Pańczyk i Kołodziejaska 2009].

Utlenianie może powodować zmiany tekstury i barwy mięsa ryb, jak również obniżać jego wartość odżywczą [Lie 2001]. Zmiany te wywołują alkohole i związki karbonylowe o niskiej masie cząsteczkowej, generowane w wyniku rozpadu wodoronadtlenków. Reakcje utlenionych lipidów i białek odpowiadają za powstawanie żółtej barwy mięsa [Masnyom 2011]. Oksydacja lipidów prowadzi ponadto do zmniejszenia udziału niezbędnych nienasyconych kwasów tłuszczowych (NNKT), zwiększając jednocześnie zawartość kwasów nasyconych. Wolne rodniki, które powstają w wyniku oksydacji, są przyczyną wielu schorzeń ustrojowych, m.in. zmian niedokrwienych, martwiczych i zwyrodnieniowych układu kostnego. Do związków toksycznych dla człowieka należą wtórne produkty utleniania lipidów, np. aldehyd dimalonowy i 4-hydroksynonenal [Tańska i Rotkiewicz 2011]. Produkty powstające podczas utleniania tłuszczów mogą też, poprzez reakcje „sieciowania”,

tj. wprowadzania wiązań sieciujących, przyczyniać się do zmian w obrębie białek. W komórkach mięśniowych białka występują w znacznych ilościach i są zlokalizowane blisko inicjatorów wolnorodnikowych, które zapoczątkowują reakcje oksydacyjne. Białka mięśniowe mogą ulegać przekształceniu zarówno przez reaktywne formy tlenu (wolne rodniki), jak i przez formy nierodnikowe, jak np. nadtlenek wodoru oraz powstające w czasie oksydacji lipidów wodoronadtlenki lipidowe. Takie reakcje prowadzą z kolei do tworzenia się rodników, pochodnych aminokwasów, rozkładu i polimeryzacji białek, a także negatywnie wpływać na niektóre właściwości produktu (np. teksturę). Wskutek sieciowania dochodzi też do modyfikacji ważnych aminokwasów oraz osłabienia właściwości funkcjonalnych białek (m.in. rozpuszczalności czy hydrofobowości) w wyniku ich denaturacji [Eymard i in. 2009].

## **Wskaźniki wartości odżywczej i prozdrowotnej lipidów ryb**

Fracja lipidowa żywności uważana jest za jeden z głównych czynników odpowiedzialnych za rozwój chorób cywilizacyjnych, takich jak otyłość, choroby sercowo-naczyniowe i onkologiczne. Dlatego też w profilaktyce tych chorób, należy szczególną uwagę zwrócić nie tylko na ilość spożywanego tłuszczu, ale również na jego skład [Achremowicz i Szary-Sworst 2005].

Poziom spożycia lipidów można ocenić za pomocą wskaźnika jakości żywieniowej (NQI – Nutritional Quality Index) [Hansen i in. 1979]. Wartość NQI określa, w jakim stopniu porcja ocenianego produktu, pokrywając zapotrzebowanie na energię, zaspokaja jednocześnie zapotrzebowanie na dany składnik odżywczy. Produkt spożywczy może być bogatym (NQI >1), dobrze zbilansowanym (NQI = 1) lub ubogim źródłem (NQI <1) składnika w relacji do energii. Badania dotyczące krajowych ryb słodkowodnych wskazują, że mięso karpia, pstrąga tęczowego, amura białego [Kaliniak 2019] oraz tołpygi pstrej [Skąlecki i in. 2015] jest korzystnie zbilansowane pod względem zawartości lipidów, natomiast tkanka mięśniowa szczupaka i sandacza jest niewystarczającym źródłem tego składnika (NQI <1) [Skąlecki i in. 2016].

Jakość lipidów oraz ich właściwości prozdrowotne zależą w głównej mierze od udziału kwasów tłuszczowych. Kwasy tłuszczowe nasycone, takie jak laurynowy (C12:0), mirystynowy (C14:0) i palmitynowy (C16:0), wykazują działanie aterogenne, tj. powodują wzrost stężenia cholesterolu całkowitego oraz frakcji LDL, podczas gdy kwasy mirystynowy, palmitynowy i stearynowy (C18:0), stymulując agregację płytek krwi, wykazują działanie trombogenne. Z uwagi na właściwości antymiażdżycowe, korzystny wpływ na zdrowie człowieka wykazują natomiast kwasy tłuszczowe jednonienasycone i wielonienasycone, w tym kwasy szeregu n-6 i n-3 (w tym kwasy LC-PUFA, jak eikozapentaenowy i dokozaheksaenowy) [FAO 2010]. W tabeli 4 przedstawiono udział najważniejszych ze zdrowotnego punktu widzenia grup kwasów tłuszczowych w lipidach ryb konsumowanych w Polsce.



Tabela 4. Udział (% sumy kwasów tłuszczowych) wybranych grup kwasów tłuszczowych w lipidach tkanki mięśniowej ryb konsumowanych w Polsce

Gatunek	SFA	MUFA	PUFA	n-3	n-6	Źródło
Karp*	28,18	54,60	16,40	5,93	9,37	Kaliniak 2019
Pstrąg tęczowy*	27,15	50,33	22,15	9,06	11,88	
Sandacz	37,26	28,11	34,63	23,46	11,17	Grela i in. 2010
Szczupak	36,28	27,46	36,26	24,85	11,41	

\* Wartości dotyczą ryb pozyskanych w sezonie wiosenno-letnim

Oprócz udziału poszczególnych kwasów tłuszczowych istotne są też ich wzajemne proporcje. Z punktu widzenia zdrowia człowieka szczególnie ważna wydaje się właściwa podaż w diecie kwasów n-3 i n-6, stanowiących odpowiednio 0,5–2% (n-3) i 2,5–9% (n-6) energii z tłuszczu [FAO 2010]. Wskazuje się, że zbyt niskie spożycie kwasów n-3 zaburza homeostazę i prawidłowy rozwój organizmu człowieka, jak również pobudza patogenezę chorób układu krążenia, nowotworowych, zapalnych i autoimmunologicznych [Simopoulos 2002] i przyczynia się do rozwoju otyłości [Simopoulos 2016]. Niestety w diecie współczesnego człowieka, szczególnie w tzw. zachodniej diecie, proporcja kwasów n-3 do n-6 wynosi 1:20–1:30 [Achremowicz i Szary-Sworst 2005, Duda i in. 2010, Sicińska i in. 2015], a wg niektórych doniesień nawet 1:50 [Martin i in. 2006]. Proporcja kwasów tłuszczowych n-3/n-6 w mięsie ryb morskich waha się od ok. 5 do ponad 10, zaś w rybach słodkowodnych od 1 do 4 [Steffens 1997, Diraman i Dibeklioglu 2009, Stancheva i in. 2012]. Spośród krajowych gatunków ryb słodkowodnych najkorzystniejszą proporcją kwasów n-3/n-6 cechuje się pstrąg tęczowy (4,3). W rybach karpiovatych (karp, leszcz, lin, karaś) proporcja ta nie przekracza 2, natomiast w mięsie tołpygi białej, tołpygi pstrej oraz amura białego waha się od 2 do 3. Spośród ryb morskich niższą proporcją n-3/n-6 odznacza się śledź (5), wyższą belona (10), a najwyższą dorsz i łosoś atlantycki (13–14). Wyjątkiem w tej grupie ryb są gatunki lagunowe pochodzące z wód słonawych, takie jak labraks i dorada, w tłuszczu których stwierdza się proporcję n-3/n-6 zbliżoną do ryb słodkowodnych (ok. 1) [Kaliniak i in. 2015].

Innym wskaźnikiem wartości prozdrowotnej lipidów jest proporcja kwasów wielonienasyconych do nasyconych (PUFA/SFA). Jej wartość powinna wynosić co najmniej 0,45 [HMSO 1994], gdyż niższy poziom tego wskaźnika może przyczynić się do rozwoju hipercholesterolemii [Ramos Filho i in. 2010]. Wartość proporcji PUFA/SFA waha się od 0,78 do 1,56 w rybach słodkowodnych [Özogul i in. 2007], od 0,45 do 0,71 w rybach utrzymywanych w polikulturze z karpem [Čirković i in. 2011] oraz od 1,32 do 1,65 w hodowlanych pstrągach tęczowych [Ehsani i in. 2013]. Wykazano, że ryby z krajowej akwakultury (karp, amur biały, pstrąg tęczowy i szczupak) charakteryzują się pożądaną pro-

porcją PUFA/SFA ( $\geq 0,6$ ), zaś najkorzystniejszą jej wartość stwierdzono w mięsie pstrąga tęczowego odłowionego jesienią i zimą [Kaliniak 2019]. Należy jednak zaznaczyć, że parametr ten, opierając się jedynie na stopniu nasycenia kwasów tłuszczowych, może okazać się niewystarczającym wskaźnikiem oceny jakości odżywczej lipidów, ponieważ nie tylko traktuje wszystkie kwasy SFA jako odpowiedzialne za wzrost poziomu cholesterolu we krwi, ale również nie uwzględnia korzystnych efektów metabolicznych kwasów MUFA [Ulbricht i Southgate 1991, Ramos Filho i in. 2010].

Dokładniejszą ocenę jakości odżywczej tłuszczów zawartych w żywności można uzyskać za pomocą indeksów uwzględniających funkcjonalne właściwości poszczególnych kwasów tłuszczowych. Jednym z nich jest proporcja kwasów o działaniu hipo- i hipercholesterolemicznym (h/H), która uwzględnia specyficzny udział kwasów tłuszczowych w metabolizmie cholesterolu. Przy czym wyższa wartość proporcji h/H jest korzystniejsza dla ludzkiego zdrowia [Ramos Filho i in. 2010].

Do innych wskaźników zaliczane są indeksy: aterogeny (AI), trombogeny (TI) oraz nasycenia (S/P) [Ulbricht i Southgate 1991]. Uwzględniają one procentowy udział grup kwasów tłuszczowych takich jak SFA, MUFA oraz PUFA n-3 i n-6, wskazując ogólnie na żywieniową jakość tłuszczu. Dodatkowo pozwalają dokładniej scharakteryzować aterogenne i trombogenne właściwości kwasów tłuszczowych, jako potencjalnie zwiększających ryzyko rozwoju choroby niedokrwiennej serca [Fallah i in. 2011]. Niższe wartości tych indeksów wskazują na wyższą wartość odżywczą kwasów tłuszczowych oraz większą zdolność diety do zapobiegania rozwojowi chorób serca [Hosseini i in. 2014]. Zdrowotność diety w odniesieniu do zawartego w niej tłuszczu można również ocenić na podstawie wartości odżywczej lipidów (NV). Uwzględnione w tym indeksie kwasy C12:0, C14:0 oraz C16:0 mają tendencję do zwiększania stężenia cholesterolu we krwi, podczas gdy kwas oleinowy (C18:1n-9c) oraz linolowy (C18:2n-6c) obniżają jego poziom [Mattson i Grundy 1985, Mensink i Katan 1992, Lorenzo i in. 2010].

W tabeli 5 przedstawiono wartości indeksów kwasów tłuszczowych dla wybranych gatunków ryb hodowlanych konsumowanych w Polsce.

Tabela 5. Wartości wybranych indeksów kwasów tłuszczowych w lipidach krajowych ryb hodowlanych

Wyszczególnienie	AI	TI	S/P	NV	h/H	n-3/n-6	PUFA/SFA	Źródło
Karp	0,39	0,58	0,39	0,47	2,68	0,72	0,62	Kaliniak 2019
Pstrąg tęczowy	0,49	0,54	0,38	0,48	3,15	0,84	1,06	
Amur biały	0,46	0,63	0,42	0,62	1,96	0,36	0,61	
Szczupak	0,42	0,38	0,39	0,68	2,43	1,25	1,08	

Kaliniak [2019] wykazała, że spośród kilku gatunków ryb krajowej akwakultury najkorzystniejsze wskaźniki pod względem zdrowotnym, w tym najniższy poziom saturacji i najkorzystniejszą proporcję kwasów o działaniu hipotensyjnym i hipercholesterolemicznym oraz najsłabsze działanie atero- i trombogenne, wykazywało mięso pstrąga tęczowego, pozyskanego w sezonie jesienno-zimowym.

## **Rola lipidów ryb w profilaktyce i leczeniu chorób cywilizacyjnych**

W tłuszczu ryb obecne są znaczne ilości wielonienasyconych kwasów tłuszczowych z grupy n-3, co sprawia, że ryby mogą być zalecanym produktem spożywczym w profilaktyce wielu chorób. Kwasy tłuszczowe n-3 dzięki swoim licznym właściwościom m.in. antyzakrzepowym, antyzapalnym, antyarytmicznym, stabilizującym błony komórkowe, usprawniającym funkcje śródbłonna, są zalecane w przypadku wielu schorzeń, np. miażdżycy, nadciśnienia tętniczego, choroby niedokrwiennej serca, nowotworów czy w przypadku chorób dermatologicznych [Wcisło i Rogowski 2006, Wikło 2011].

Za szczególnie korzystne dla ludzkiego zdrowia uważa się zawarte w tłuszczu ryb kwasy eikozapentaenowy i dokozaheksaenowy [Satar i in. 2012, de Oliveira i in. 2016]. Kwas tłuszczowy EPA jest niezbędny do przekazywania informacji pomiędzy komórkami mózgowymi. Jest on obok kwasu arachidonowego (AA) prekursorem tzw. hormonów tkankowych (eikozanoidów). DHA jest natomiast kwasem tłuszczowym strukturalnym, składnikiem komórek mózgu, siatkówki oka i plemników, warunkującym ich funkcje fizjologiczne. Kwas ten jest zatem bardzo ważnym składnikiem diety kobiet w ciąży, jak również pokarmu dla niemowląt. Odpowiednia jego zawartość wspomaga prawidłowy rozwój centralnego układu nerwowego w okresie prenatalnym, u noworodków i dzieci [Achremowicz i Szary-Sworst 2005, Hibbeln i in. 2007, Krawczyk i Rybakowski 2007, Wang i in. 2011, Arbex i in. 2015]. Zaleca się zatem, aby kobiety w ciąży i kobiety karmiące spożywały więcej o ok. 100–200 g/dzień wielonienasyconych kwasów tłuszczowych, co można uzyskać zwiększając w diecie podaż ryb i ich przetworów [Hu i in. 2002, EFSA 2010]. Wykazano, że dzieci kobiet spożywających kwas DHA w ilości ok. 100 mg/dzień miały wyższe IQ w stosunku do swoich rówieśników [Cohen i in. 2005, Hoekstra i in. 2013]. Korzyści ze spożycia wielonienasyconych kwasów tłuszczowych przez niemowlęta i dzieci obserwowano również w efekcie suplementacji tranem, jednakże wyniki nie były spójne [Ruxton 2011]. W przypadku niedoboru kwasu DHA u niemowląt stwierdzono natomiast obniżenie ostrości widzenia i zdolności uczenia się w późniejszym wieku. W skrajnych przypadkach może to powodować nieprawidłowości w procesie mielinizacji komórek nerwowych, a w konsekwencji sprzyjać powstawaniu pewnych stanów niedorozwoju umysłowego [Crawford i in. 2003]. W tabeli 6 przedstawiono zalecenia w zakresie spożycia kwasów EPA i DHA oraz ryb dla wybranych grup społecznych.

Nieprawidłowe żywienie, a szczególnie nadmierne spożycie tłuszczów zwierzęcych, zawierających kwasy tłuszczowe nasycone oraz cholesterol jest przyczyną hiperlipidemii [Broda 1991, Parniley 1997]. Dlatego też profilaktyka miażdżycy opiera się na diecie hipolipemicznej, w której zaleca się ograniczenie spożycia tłuszczów zwierzęcych i cholesterolu. Ekspertki American Heart Association (AHA) w stanowisku „Dieta i rekomendacje nt. stylu życia. Rewizja 2006” zalecają ludziom zdrowym spożywanie (oprócz owoców i warzyw) 2 porcji tłustych ryb tygodniowo, a pacjentom z chorobą niedokrwienną serca ok. 1 g EPA + DHA dziennie [Lichtenstein i in. 2006]. Produkty, w których cholesterol występuje w stanie naturalnym w dużych ilościach, np. wytwarzane z dodatkiem jaj, przetwory mięsne, podroby, tłuszcze zwierzęce, należy zastępować przez żywność funkcjonalną o obniżonej zawartości cholesterolu. Mięso ryb morskich jest od dawna zalecane jako ubogie w cholesterol, bowiem zawiera przeciętnie 5-krotnie mniej tego związku niż masło i ok. 20-krotnie mniej niż żółtko jaja. Celik i in. [2008], oceniając właściwości żywieniowe pstrąga tęczowego, stwierdzili zawartość cholesterolu w 100 g mięsa na poziomie 35 mg.

Zastosowanie kwasów eikozapentaenowego, dohozaheksaenowego oraz  $\alpha$ -linolenowego (ten ostatni występuje także w olejach lnianym, sojowym i rzepakowym) w profilaktyce i leczeniu chorób układu krążenia wynika z ich zdolności do obniżania we krwi stężenia triacylogliceroli i cholesterolu, zwłaszcza frakcji VLDL oraz z ich działania antyagregacyjnego, hipotensyjnego, przeciwzapalnego i zapobiegającego zaburzeniom rytmu serca [Parks i Rudel 1990, Kolanowski i Świdorski 1997, Naruszewicz 2001]. Należy również nadmienić, że w powstawaniu zmian miażdżycowych istotną rolę przypisuje się utlenianiu lipidów i lipoprotein osocza, zwłaszcza cząstek LDL. Naturalne antyoksydanty, które chronią cząsteczki LDL przed utlenieniem czyniąc je mniej szkodliwymi dla organizmu człowieka, stwierdzono również w rybach [Diplock i in. 1998, Knapik-Czajka 1998, Chopra i Thurnham 1999, Walczak i Cybulska 1999, Półbrat 2018].

Wiele badań naukowych oceniających wpływ spożycia ryb na organizm człowieka dotyczyło chorób układu krążenia [Cohen i in. 2005, Ruxton 2011, Hoekstra i in. 2013, Weichselbaum i in. 2013]. Wykazano, że regularna konsumpcja dwóch porcji ryb tygodniowo prowadziła do zmniejszenia ryzyka śmierci z powodu choroby wieńcowej nawet o 23–25%, a w przypadku osób spożywających ryby zaledwie raz na tydzień spadek wynosił ok. 15% w porównaniu z osobami, które nie spożywały ryb. Badania potwierdziły ponadto korzystny wpływ ryb na obniżenie występowania udaru mózgu. W zależności od ilości spożywanych porcji tygodniowo (2–4) ryzyko spadło od 6% do 18% [Weichselbaum i in. 2013].

Odpowiednia podaż kwasów tłuszczowych w diecie osób dorosłych może wpływać również na obniżenie ryzyka demencji i choroby Alzheimera w wieku starszym. Jakkolwiek sugeruje się, że w przypadku osób starszych spożywających większe ilości wielonienasyconych kwasów tłuszczowych w diecie, występuje niższe ryzyko (o ok. 60%) wystąpienia ww. chorób, to niektóre badania tej tezy jednak nie potwierdzają [Weichselbaum i in. 2013].

Tabela 6. Zalecane spożycie kwasów EPA i/lub DHA oraz ryb

Instytucja	Składnik	Dorośli (mężczyźni/ kobiety)	Szczególne rekomendacje	Źródło
Europejski Urząd ds. Bezpieczeństwa Żywności (EFSA)	EPA i/lub DHA	AI = 250 mg EPA + DHA /dobę	Kobiety w ciąży i laktacji RI = 250 mg DHA + EPA /dobę dodatkowo 100–200 mg DHA/dobę	EFSA 2010
	ryby	1–2 porcje tłustych ryb w tygodniu		
Organizacja Narodów Zjednoczonych ds. Wyżywienia i Rolnictwa / Światowa Organizacja Zdrowia (FAO/WHO)	EPA i/lub DHA	AMDR = 250 mg EPA + DHA /dobę	Kobiety w ciąży i laktacji L-AMDR = 300 mg EPA + DHA/dobę, w tym 200 mg DHA	FAO 2010
	ryby	1–2 porcje tłustych ryb w tygodniu		
Amerykańskie Towarzystwo Kardiologiczne (AHA)	EPA + DHA	500 mg mg EPA + DHA /dobę	Zapobieganie chorobom serca (CHD) 1 g EPA + DHA/dobę Leczenie hipertriglicydemi 2–4 g EPA + DHA /dobę	Kris-Etherton i in. 2002, Lloyd-Jones i in. 2010
	ryby	≥ 2 porcje po ok. 100 g ryb w tygodniu, najlepiej tłustych	Kobiety w ciąży i laktacji Do ok. 340 g różnych gatunków ryb o niskiej zawartości rtęci tygodniowo	
Narodowy Instytut Zdrowia i Doskonałości Klinicznej Wielkiej Brytanii (NICE)	ryby	2 porcje ryb w tygodniu, w tym 1 porcja ryb tłustych	Profilaktyka w chorobach sercowo-naczyniowych (CVD)	NICE 2014
Narodowa Fundacja Kardiologiczna Australii (NHF)	EPA + DHA		Zapobieganie chorobom serca (CHD) 1000 g EPA + DHA/dobę Leczenie hipertriglicydemi dawka początkowa 1200 mg EPA + DHA dziennie, zwiększenie do 4000 mg dziennie, aż do osiągnięcia celu	Sugano i Hirahara 2000, Papanikolaou i in. 2014

Objaśnienia: AI (ang. adequate intake) – wystarczające spożycie, RI (ang. recommended intake) – zalecane spożycie, AMDR (ang. acceptable macronutrient distribution range) – dopuszczalny zakres zawartości makroskładników, L-AMDR (ang. lower acceptable macronutrient distribution range) – dolny dopuszczalny zakres zawartości makroskładników

Naukowcy dopatrują się również zależności między spożyciem ryb a ryzykiem wystąpienia depresji. Związek zwiększonego spożycia wielonienasyconych kwasów tłuszczowych z mniejszym ryzykiem występowania symptomów depresji potwierdzili Tanskanen i in. [2001] oraz Colangelo i in. [2009]. Hibbeln [1998] zauważa, że jakkolwiek istnieje korelacja pomiędzy spożyciem ryb a depresją, to na wystąpienie tego schorzenia mogą istotnie wpływać także inne czynniki, np. społeczne, gospodarcze czy kulturowe. Niemniej jednak korzystny wpływ spożycia wielonienasyconych kwasów tłuszczowych na częstość występowania symptomów depresji potwierdzili również Tanskanen i in. [2001] oraz Colangelo i in. [2009]. Spożycie ryb może również ograniczać występowanie innych schorzeń (tab. 6). Wykazano synergistyczne korzystne oddziaływanie zawartych w rybach i przetworach rybnych PUFA, składników mineralnych oraz witaminy D na układ szkieletowy człowieka [Weichselbaum i in. 2013]. Ryby mogą również wpływać na obniżenie odczuwania bólu i zmniejszenie sztywności stawów, przez co ogranicza się konieczność przyjmowania leków przeciwzapalnych przez chorych na reumatoidalne zapalenie stawów. Jednakże związek pomiędzy spożyciem ryb z redukcją ryzyka występowaniem ww. chorób wciąż wymaga potwierdzenia [Miles i Calder 2012].

W ostatnim okresie badano również wpływ spożycia ryb na występowanie otyłości, tj. aktualnie jednej z najważniejszych chorób cywilizacyjnych. Wykazano, że zwiększonej konsumpcji ryb towarzyszyła większa utrata masy ciała u osób z nadwagą i otyłością [Ramel i in. 2009]. Jakkolwiek badania te nie wyjaśniły mechanizmu oddziaływania ryb na tempo utraty masy ciała, to jako wysokobiałkowy produkt spożywczy o właściwości sycących, mogą stanowić doskonały element diety osób z nadwagą czy otyłością.

Zwraca się również uwagę na prawdopodobny związek pomiędzy spożyciem ryb i kwasów EPA + DHA a obniżeniem ryzyka wystąpienia niektórych chorób nowotworowych (tab. 7). Wyniki przeprowadzonych badań i metaanaliz nie są w tym względzie jednoznaczne.

Tabela 7. Spożycie ryb i kwasów EPA + DHA a zmniejszenie ryzyka występowania wybranych nowotworów [EFSA 2010]

Wyszczególnienie	Nowotwór			Ilość związana z obniżeniem ryzyka
	okreźnicy	prostaty	piersi	
Ryby	P ↓	N	N	2–3 porcje w tygodniu
EPA + DHA	P ↓	N	M ↓	500 mg/dobę

Objaśnienia: siła dowodów: P – prawdopodobne, M – możliwe, N – niewystarczające, ↓ – obniżenie ryzyka

Stwierdzono, że wysokie spożycie ryb u kobiet w Japonii i Korei Płd. zmniejsza ryzyko zachorowania na raka piersi [Wakai i in. 2005, Kim i in. 2009], jajnika [Kolahdooz i in. 2010] i jelita grubego [Norat i in. 2005, Gonzalez i Riboli 2010, Wu i in. 2012]. Przeprowadzone w USA badania prospektywne

wykazały związek spożycia więcej niż trzech posiłków z ryb tygodniowo z mniejszym ryzykiem zachorowania na raka prostaty [Augustsson i in. 2003]. Wykazano, że codzienne spożycie 0,5 g EPA i DHA wykazuje działanie profilaktyczne w przypadku nowotworu gruczołu krokowego [Leitzmann i in. 2004]. Spożycie oleju z ryb zmniejsza ryzyko zaawansowanego nowotworu stercza również u mężczyzn w starszym wieku, w porównaniu z osobami, które nigdy go nie stosowały [Torfadottir i in. 2013]. Na podstawie wyników badań i metaanaliz potwierdzono również wpływ wysokiego spożycia ryb na znaczącą redukcję umieralności na nowotwór gruczołu krokowego [Pham i in. 2009, Szymanski i in. 2010], nawet w zakresie 34–40% [Epstein i in. 2012].

## Podsumowanie

Ryby z uwagi zarówno na profilaktyczne, jak i prawdopodobne lecznicze działanie powinny być integralną częścią zbilansowanej diety człowieka. Prozdrowotny efekt konsumpcji ryb wiąże się z obecnością wielonienasyconych kwasów tłuszczowych (głównie n-3) i jednonienasyconych, niezbędnych do zachowania dobrego zdrowia. Przy komponowaniu diety z udziałem ryb należy uwzględnić istotne i uwarunkowane wieloma czynnikami różnice w składzie ich tłuszczu oraz zawartości poszczególnych kwasów tłuszczowych. Na uwagę zasługuje również fakt, że wiele surowców rybnych, takich jak ikra, wątroba czy skóra, jest wartościowym i niewykorzystywanym źródłem lipidów, w tym długołańcuchowych kwasów tłuszczowych n-3. Niestety, pomimo wielu korzyści płynących z spożycia ryb, ich konsumpcja w kraju jest nadal na niskim poziomie. Bardzo istotne i zasadne wydają się zatem działania mające na celu edukację żywieniową, która przyczyni się do zwiększenia świadomości konsumentów i ich wiedzy na temat roli ryb w diecie człowieka i możliwości wykorzystania ich w profilaktyce i prewencji chorób cywilizacyjnych.

## Piśmiennictwo

- Aberoumand A., 2012. Proximate composition of less known some processed and fresh fish species for determination of the nutritive values in Iran. *J. Agri. Tech.* 8, 917–922.
- Achremowicz K., Szary-Sworst K., 2005. Wielonienasycone kwasy tłuszczowe czynnikiem poprawy stanu zdrowia człowieka. *Żywn. Nauka Technol. Jakość* 3 (44), 23–35.
- Alasalvar C., Taylor K.D.A., Zubcov E., Shahidi F., Alexis M., 2002. Differentiation of cultured and wild sea bass (*Dicentrarchus labrax*): total lipid content, fatty acid and trace mineral composition. *Food Chem.* 79, 145–150, [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(02\)00122-X](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(02)00122-X).
- Al-Sayed Mahmoud K., Linder M., Fanni J., Parmentier M., 2008. Characterisation of the lipid fractions obtained by proteolytic and chemical extractions from rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) roe. *Process Biochem.* 43, 376–383, <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2008.01.011>
- Arbex A.K., Bizarro V.R., Santos J.C.S., Araújo L.M.M., Conceição de Jesus A.L., Fernandes M.S.A., Salles M.M., Rocha D.R.T.W., Marcadenti A., 2015. The Impact of the Essential

- Fatty Acids (EFA) in Human Health. *Open J. Endocr. Metab. Dis.* 5, 98–104, <http://dx.doi.org/10.4236/ojemd.2015.57013>
- Augustsson K., Michaud D.S., Rimm E.B., Leitzmann M.F., Stampfer M.J., Willett W.C., Giovannucci E., 2003. A prospective study of intake of fish and marine fatty acids and prostate cancer. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* 12, 64–67.
- Borawska J., Darewicz M., Protasiewicz M., 2015. Peptydy kardioprotekcyjne jako wyróżniki jakości białek ryb. *Zesz. Nauk. AM w Gdyni* 88, 137–141.
- Bouriga N., Selmi S., Faure E., Trabelsi M., 2010. Biochemical composition of three Tunisian silverside (fish) populations caught in open sea, lagoon and island coasts. *Afr. J. Biotechnol.* 9 (26), 4114–4119, <https://doi.org/10.5897/AJB2010.000-3294>
- Broda G., 1991. Czynniki środowiskowe i osobnicze wpływające na lipidy i lipoproteiny. *Przeg. Lek.* 48, 307–312.
- Brzozowska E., 1998. Ryby – wartość odżywcza i przydatność kulinarna. *Przem. Spoż.* 7, 37–39.
- Busetto M.L., Moretti V.M., Moreno-Rojas J.M., Caprino F., Giani I., Malandra R., Bellagamba F., Guillou C. 2008. Authentication of farmed and wild turbot (*Psetta maxima*) by fatty acid and isotopic analyses combined with chemometrics. *J. Agric. Food Chem.* 56, 2742–2750, <https://doi.org/10.1021/jf0734267>
- Celik M., Gökçe M.A., Başusta N., Küçükgülmez A., Taşbozan O., Tabakoğlu Ş.S., 2008. Nutritional quality of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) caught from the Atatürk Dam Lake in Turkey. *J. Muscle Foods* 19, 50–61, <https://doi.org/10.1111/j.1745-4573.2007.00099.x>.
- Chaijan M., Benjakul S., Visessanguan W., Faustman C., 2006. Changes of lipids in sardine (*Sardinella gibbosa*) muscle during iced storage. *Food Chem.* 99, 83–91, <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.07.022>
- Chopra M., Thurnham D.I., 1999. Antioxidants and lipoprotein metabolism. *Proc. Nutr. Soc.* 58, 663–671, <https://doi.org/10.1017/S0029665199000865>
- Cichosz G., Czeczot H., 2011. Stabilność oksydacyjna tłuszczów jadalnych – konsekwencje zdrowotne. *Bromatol. Chem. Toksyk.* 44, 1, 50–60.
- Ćirković M., Trbović D., Ljubojević D., Đorđević V., 2011. Meat quality of fish farmed in polyculture in carp ponds in Republic of Serbia. *Tehnol. Mesa* 52, 1, 106–121.
- Cohen J.T., Bellinger D.C., Connor W.E., Shaywitz B.A., 2005. A quantitative analysis of prenatal intake of n-3 polyunsaturated fatty acids and cognitive development. *Am. J. Prev. Med.* 29, 366–374, <https://doi.org/10.1016/j.amepre.2005.06.008>
- Colangelo L.A., He K., Whooley M.A., Davi G.L., Liu K., 2009. Higher dietary intake of long-chain omega-3 polyunsaturated fatty acids is inversely associated with depressive symptoms in women. *Nutrition*, 25, 1011–1019, <https://doi.org/10.1016/j.nut.2008.12.008>
- Crawford M.A., Golfetto I., Ghebremeskel K., Min Y., Moodley T., Poston L., Phylactos A., Cunnane S., Schmidt W., 2003. The potential role for arachidonic and docosahexaenoic acids in protection against some central nervous system injuries in preterm infants. *Lipids* 38 (4), 303–315, <https://doi.org/10.1007/s11745-003-1065-1>
- De Oliveira D.A., Minozzo M.G., Licodiedoff S., Waszczynskyj N., 2016. Physicochemical and sensory characterization of refined and deodorized tuna (*Thunnus albacares*) by-product oil obtained by enzymatic hydrolysis. *Food Chem.* 207, 187–194, <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.03.069>
- Diplock A.T., Charleux J.L., Crozier-Willi G., Kok F.J., Rice-Evans C., Roberfroid M., Stahl W., Yina-Ribes J. 1998. Functional food science and defence against reactive oxidative species. *Br. J. Nutr.*, 80, 1, 77–112, <https://doi.org/10.1079/BJN19980106>
- Diraman H., Dibeklioglu H., 2009. Chemometric characterization and classification of selected freshwater and marine fishes from Turkey based on their fatty acid profiles. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 86, 235–246, <https://doi.org/10.1007/s11746-008-1338-3>
- Domiszewski Z., 2012. Wpływ temperatury ogrzewania na jakość lipidów podczas chłodniczego przechowywania ogrzanej tkanki mięsnej śledzia bałtyckiego (*Clupea harengus membran*). *Folia Pomer. Univ. Technol. Stetin, Agric., Aliment., Pisc. Zootech.* 300 (24), 43–56.
- Duda M.K., O’Shea K.M., Stanley W.C., 2010. Wielonienasycone kwasy tłuszczowe omega-3 w niewydolności serca. *Kardiol. Pol.* 68, V, 400–404.



- EFSA, 2010. Scientific opinion on dietary reference values for fats, including saturated fatty acids, polyunsaturated fatty acids, monounsaturated fatty acids, trans fatty acids, and cholesterol. *EFSA J.* 8 (3), 1461, 1–107.
- Ehsani A., Jasour M.S., Khodayari M., 2013. Differentiation of common marketable-size rainbow trouts (*Oncorhynchus mykiss*) based on nutritional and dietetic traits: a comparative study. *J. Appl. Anim. Res.* 41 (4), 387–391, <https://doi.org/10.1080/09712119.2013.783483>
- Epstein M.M., Kasperzyk J.L., Mucci L.A., Giovannucci E., Price A., Wolk A., Håkansson N., Fall K., Andersson S.O., Andrén O., 2012. Dietary fatty acid intake and prostate cancer survival in Örebro County, Sweden. *Am. J. Epidemiol.* 176: 240–252, <https://doi.org/10.1093/aje/kwr520>
- Etemadi H., Rezaei M., Abedian Kenari A.M., Hosseini S.F., 2013. Combined effect of vacuum packaging and sodium acetate dip treatment on shelf life extension of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) during refrigerated storage. *J. Agr. Sci. Tech.* 15, 929–939.
- EU, 2020. The EU fish market. European Commission – European Market Observatory for Fisheries and Aquaculture Products. Luxembourg: Publications Office of the European Union, ISBN 978-92-76-15377-1, ISSN 2363-4154, <https://doi.org/10.2771/664425>.
- Eymard S., Baron C.P., Jacobsen C., 2009. Oxidation of lipid and protein in horse mackerel (*Trachurus trachurus*) mince and washed minces during processing and storage. *Food Chem.* 114, 57–65, <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.09.030>
- Fallah A.A., Saei-Dehkordi S.S., Nematollahi A., 2011. Comparative assessment of proximate composition, physicochemical parameters, fatty acid profile and mineral content in farmed and wild rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Int. J. Food Sci. Technol.* 46, 767–773, <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2011.02554.x>
- FAO, 2010. Fats and fatty acids in human nutrition. Report of an expert consultation. *FAO Food Nutr. Pap.*, 91.
- Gonzalez C.A., Riboli E., 2010. Diet and cancer prevention: contributions from the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC) study. *Eur. J. Cancer* 46, 2555–2562, <https://doi.org/10.1016/j.ejca.2010.07.025>
- Grela E.R., Pisarski R.K., Kowalczyk-Vasilev E., Rudnicka A., 2010. Zawartość składników odżywczych, mineralnych i profil kwasów tłuszczowych w mięsie wybranych gatunków ryb w zależności od terminu odłowu. *Żywn. Nauka Technol. Jakość* 4 (71), 63–72.
- Grigorakis K., 2007. Compositional and organoleptic quality of farmed and wild gilthead sea bream (*Sparus aurata*) and sea bass (*Dicentrarchus labrax*) and factors affecting it: A review. *Aquaculture* 27, 55–75, <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2007.04.062>.
- Hansen R.G., Wyse B.W., Sorenson A.W., 1979. Nutrition quality index of food. Westport, CT: AVI Publishing Co. 36–51.
- Hibbeln J.R., 1998. Fish consumption and major depression. *Lancet* 351, 1213, [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(05\)79168-6](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(05)79168-6)
- Hibbeln J.R., Davis J.M., Steer C., Emmett P., Rogers I., Williams C., Golding J., 2007. Maternal seafood consumption in pregnancy and neurodevelopmental outcomes in childhood (ALSPAC study): an observational cohort study. *Lancet* 369, 578–585, [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(07\)60277-3](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(07)60277-3)
- HMSO (Her Majesty's Stationery Office, UK) 1994. Nutritional aspects of cardiovascular disease. Report on health and social subjects, 46. HMSO, London.
- Hoekstra J., Hart A., Owen H., Zeilmaker M., Bokkers B., Thorgilsson B., Gunnlaugsdottir H., 2013. Fish, contaminants and human health: quantifying and weighing benefits and risks. *Food Chem. Toxicol.* 54, 18–29, <https://doi.org/10.1016/j.fct.2012.01.013>
- Hosseini H., Mahmoudzadeh M., Rezaei M., Mahmoudzadeh L., Khaksar R., Khosroshahi N.K., Babakhani A., 2014. Effect of different cooking methods on minerals, vitamins and nutritional quality indices of kutum roach (*Rutilus frisii kutum*). *Food Chem.* 148, 86–91, <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.10.012>
- Hrzeszko K., 2019. Rynek ryb. Stan i perspektywy. Wyd. IERiGŻ – PIB, Warszawa.
- Hu F.B., Bronner L., Willett W.C., Stampfer M.J., Rexrode K.M., Albert C.M., Hunter D., Manson J.A., 2002. Fish and omega-3 fatty acid intake and risk of coronary heart disease in women. *JAMA* 287, 14, 1815–1821, <https://doi.org/10.1001/jama.287.14.1815>

- Huss H.H., 1995. Quality and quality changes in fresh fish. FAO Fisheries Technical Paper 348, FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations), Rome, ISBN 92-5-103507-5, <http://www.fao.org/docrep/v7180e/v7180e00.htm>
- Hyldig G., Nielsen D., 2001. A review of sensory and instrumental methods used to evaluate the texture of fish muscle. *J. Texture Stud.* 32, 219–242, <https://doi.org/10.1111/j.1745-4603.2001.tb01045.x>
- Jankowska B., Zakęś Z., Żmijewski T., Szczepkowski M., 2003. Fatty acid profile and meat utility of wild and cultured zander, *Sander lucioperca* (L.). *EJPAU.* 6 (1), #02, <http://www.ejpau.media.pl/volume6/issue1/fisheries/art-02.html> [dostęp: 29.04.2021].
- Jankowska B., Zakęś Z., Żmijewski T., Szczepkowski M., 2008. Fatty acid composition of wild and cultured northern pike (*Esox lucius*). *J. Appl. Ichthyol.* 24, 196–201, <https://doi.org/10.1111/j.1439-0426.2007.01011.x>
- Jeyasekaran G., Ganesan P., Anandaraj R., Jeya Shakila R., Sukumar D., 2006. Quantitative and qualitative studies on the bacteriological quality of Indian white shrimp (*Penaeus indicus*) stored in dry ice. *Food Microbiol.* 23, 526–533, <https://doi.org/10.1016/j.fm.2005.09.009>
- Kaliniak A., 2019. Wpływ sezonu pozyskania wybranych gatunków ryb z polskiej akwakultury na profil kwasów tłuszczowych i wskaźniki żywieniowe lipidów ich mięsa. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość* 26, 119, 70–82, <https://doi.org/10.15193/zntj/2019/119/286>
- Kaliniak A., Florek M., Skąlecki P., 2015. Profil kwasów tłuszczowych mięsa, ikry i wątroby ryb. *Żywn. Nauka Technol. Jakość* 99, 29–46, <https://doi.org/10.15193/zntj/2015/99/020>.
- Kandemir T., Polat N., 2007. Seasonal variation of total lipid and total fatty acid in muscle and liver of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* W., 1792) reared in Derbent Dam Lake. *Turkish J. Fish. Aquat. Sci.* 7, 27–31, <https://dergipark.org.tr/en/pub/trjfas-ayrildi/issue/13284/160564> [dostęp: 29.04.2021].
- Kim J., Lim S.Y., Shin A., Sung M.K., Ro J., Kang H.S., Lee K.S., Kim S.W., Lee E.S., 2009. Fatty fish and fish omega-3 fatty acid intakes decrease the breast cancer risk: a case-control study. *BMC Cancer* 9, 216, <https://doi.org/10.1186/1471-2407-9-216>
- Knapik-Czajka M., 1998. Rola wybranych antyoksydantów pokarmowych w ochronie frakcji LDL przed utlenieniem. *Bromat. Chem. Toksykol.* 31, 93–99.
- Kolahdoz F., van der Pols J.C., Bain C.J., Marks G.C., Hughes M.C., Whiteman D.C., Webb P.M., 2010. Meat, fish, and ovarian cancer risk: results from 2 Australian case-control studies, a systematic review, and meta-analysis. *Am. J. Clin. Nutr.* 91, 1752–1763, <https://doi.org/10.3945/ajcn.2009.28415>
- Kolanowski W., Świdzki F., 1997. Wielonienasycone kwasy tłuszczowe z grupy n-3 (n-3 PUFA). Korzystne działanie prozdrowotne, zalecenia spożycia, wzbogacanie żywności. *Żyw. Człow. Metab.* 24, 49–63.
- Kołąkowska A., Kołąkowski E., 2001. Szczególne właściwości żywieniowe ryb. *Przem. Spoż.* 6, 10–12.
- Konieczny S., 2010. Kształtowanie się spożycia ryb i przetworów rybnych przez rodziców i dzieci szkół gimnazjalnych w Szczecinie. *Folia Pomer. Univ. Technol. Stetin., s. Oeconomica* 284 (61), 27–32.
- Krawczyk K., Rybakowski J., 2007. Zastosowanie kwasów tłuszczowych omega-3 w leczeniu depresji. *Farmakoter. Psychiatr. Neurol.* 2, 101–107.
- Kris-Etherton P.M., Harris W.S., Appel L.J., 2002. Fish consumption, fish oil, omega-3 fatty acids, and cardiovascular disease. *Circulation* 106 (21), 2747–2757, <https://doi.org/10.1161/01.cir.0000038493.65177.94>.
- Leitzmann M.F., Stampfer M.J., Michaud D.S., Augustsson K., Colditz G.C., Willett W.C., Giovannucci E.L., 2004. Dietary intake of n-3 and n-6 fatty acids and the risk of prostate cancer. *Am. J. Clin. Nutr.* 80, 204–216, <https://doi.org/10.1093/ajcn/80.1.204>.
- Li G., Sinclair A. J., Li D., 2011. Comparison of lipid content and fatty acid composition in the edible meat of wild and cultured freshwater and marine fish and shrimps from China. *J. Agric. Food Chem.* 59, 1871–1881, <https://doi.org/10.1021/jf104154q>
- Lichtenstein A.H., Appel L.J., Brands M., 2006. Diet and lifestyle recommendations revision 2006. A scientific statement from the American Heart Association Nutrition Committee. *Circulation* 114, 82–96, <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.106.176158>

- Lie Ø., 2001. Flesh quality – the role of nutrition. *Aquac. Res.* 32, 341–348, <https://doi.org/10.1046/j.1355-557x.2001.00026.x>
- Ljubojević D., Ćirković M., Novakov N., Jovanović R., Janković S., Đorđević V., Mašić Z., 2013. Productivity and Meat Nutrient in Fish The Diet Effect. *Kafkas Univ. Vetr. Fak. Derg.* 19 (1), 43–49; <https://doi.org/10.9775/kvfd.2012.7088>.
- Ljubojević D., Ćirković M., Novakov N., Puvača N., Aleksić N., Lujić J., Jovanović R., 2014. Comparison of meat quality of tench, *Tinca tinca*, reared in extensive and semi-intensive culture systems. *J. Appl. Ichthyol.* 30, 50–57; <https://doi.org/10.1111/jai.12425>.
- Lloyd-Jones D.M. (red.) 2010. Defining and setting national goals for cardiovascular health promotion and disease reduction: the American Heart Association's strategic Impact Goal through 2020 and beyond. *Circulation* 121, 586–613, <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.109.192703>.
- Lorenzo J.M., Fuciños C., Purriños L., Franco D., 2010. Intramuscular fatty acid composition of “Galician Mountain” foals breed. Effect of sex, slaughter age and livestock production system. *Meat Sci.* 86, 825–831, <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2010.07.004>
- Łuczyńska J., Tońska E., Borejszo Z., 2011. Zawartość makro- i mikroelementów oraz kwasów tłuszczowych w mięśniach łososia (*Salmo salar* L.), pstrąga tęczowego (*Oncorhynchus mykiss* Walb.) i karpia (*Cyprinus carpio* L.). *Żywn. Nauka Technol. Jakość* 76, 162–172.
- Malinowska-Pańczyk E., Kołodziejska I., 2009. Enzymy występujące w mięsie i ich wrażliwość na wysokie ciśnienie. *Med. Weter.* 65 (12), 817–822.
- Marciniak-Lukasiak K., 2011. Rola i znaczenie kwasów tłuszczowych omega-3. *Żywn. Nauka Technol. Jakość* 79, 24–35.
- Martin C.A., Almeida V.V., Ruiz M.R., Visentainer J.E.L., Matshushita M., de Souza N.E., Visentainer J.V., 2006. Ácidos graxos poliinsaturados ômega-3 e ômega-6: importância e ocorrência em alimentos. *Rev. Nutr.* 19, 6, 761–770, <https://doi.org/10.1590/S1415-52732006000600011>
- Masniyom P., 2011. Deterioration and shelf-life extension of fish and fishery products by modified atmosphere packaging. *Songklanakarin J. Sci. Technol.* 33 (2), 181–192.
- Mattson F.H., Grundy S.M., 1985. Comparison of effects of dietary saturated, monounsaturated, and polyunsaturated fatty acids on plasma lipids and lipoproteins in man. *J. Lipid Res.* 26, 194–202, [https://doi.org/10.1016/S0022-2275\(20\)34389-3](https://doi.org/10.1016/S0022-2275(20)34389-3)
- Mensink R.P., Katan M.B., 1992. Effect of Dietary Fatty Acids on Serum Lipids and Lipoproteins. A Meta-analysis of 27 Trials. *Arterioscler. Thromb.* 12, 8, 911–919, <https://doi.org/10.1161/01.atv.12.8.911>
- Miles E., Calder P., 2012. Influence of marine n-3 polyunsaturated fatty acids on immune function and a systematic review of their health effects on clinical outcomes in rheumatoid arthritis. *Br. J. Nutr.* 107, 171–184, <https://doi.org/10.1017/S0007114512001560>
- Morrissey P.A., Sheehy P.J.A., Galvin K., Kerry J.P., Buckley D.J., 1998. Lipid stability in meat and meat products. *Meat Sci.* 49, 73–86.
- Naruszewicz M., 2001. Aktualne spojrzenie na profilaktykę i leczenie miażdżycy. *Terapia* 10, 5–12.
- NICE, 2014. Lipid modification: cardiovascular risk assessment and the modification of blood lipids for the primary and secondary prevention of cardiovascular disease. W: NICE clinical guideline 181.
- Norat T., Bingham S., Ferrari P., Slimani N., Jenab M., Mazuir M., Overvad K., Olsen A., Tjønneland A., Clavel F., Boutron-Ruault M.C., Kesse E., Boeing H., Bergmann M.M., Nieters A. i in. 2005. Meat, fish, and colorectal cancer risk: the European prospective investigation into cancer and nutrition. *J. Natl. Cancer Inst.* 97, 906–916, <https://doi.org/10.1093/jnci/dji164>
- Özogul Y., Özogul F., Alagoz S., 2007. Fatty acid profiles and fat contents of commercially important seawater and freshwater fish species of Turkey: A comparative study. *Food Chem.* 103, 217–223, <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.08.009>.
- Pacheco-Aguilar R., Lugo-Sanchez M.E., Robles-Burgueno M.R., 2000. Post mortem biochemical characteristic of Monterey sardine muscle stored at 0°C. *J. Food Sci.* 65, 40–47, <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2000.tb15953.x>
- Papanikolaou Y., Brooks J., Reider C., Fulgoni V.L., 2014. U.S. adults are not meeting recommended levels for fish and omega-3 fatty acid intake: results of an analysis using observa-

- tional data from NHANES 2003–2008. *Nutr. J.* 13, 31, <https://doi.org/10.1186/1475-2891-13-31>
- Parks J.S., Rudel L.L., 1990. Effect of fish oil on atherosclerosis and lipoprotein metabolism. *Atherosclerosis*. 84, 83–94, [https://doi.org/10.1016/0021-9150\(90\)90077-v](https://doi.org/10.1016/0021-9150(90)90077-v)
- Parniley W.W., 1997. Nonlipoprotein risk factors for coronary heart disease: evaluation and management. *Am. J. Med.* 102, 7–144, [https://doi.org/10.1016/s0002-9343\(97\)00461-0](https://doi.org/10.1016/s0002-9343(97)00461-0)
- Pham T.M., Fujino Y., Kubo T., Ide R., Tokui N., Mizoue T., Ogimoto I., Matsuda S., Yoshimura T., 2009. Fish intake and the risk of fatal prostate cancer: findings from a cohort study in Japan. *Public Health Nutr.* 12, 609–613, <https://doi.org/doi:10.1017/S1368980008003182>
- Piironen V., Toivo J., Lampi A.M., 2002. New data for cholesterol contents in meat, fish, milk, eggs and their products consumed in Finland. *J. Food Compos. Anal.* 15, 705–713, <https://doi.org/10.1006/jfca.2002.1095>
- Pirestani S., Sahari M.A., Barzegar M., Nikoopour H., 2010. Lipid, cholesterol and fatty acid profile of some commercially important fish species from South Caspian Sea. *J. Food Biochem.* 34, 886–895, <https://doi.org/10.1111/j.1745-4514.2010.00343.x>
- PN-A/86770:1999 – Ryby i przetwory rybne – Terminologia.
- Polak-Juszczak L., Adamczyk M., 2009. Jakość i skład aminokwasowy białka ryb z Zalewu Wiślanego. *Żywn. Nauka Technol. Jakość* 3 (64), 75–83
- Półbrat T., 2018. Naturalne antyoksydanty oraz ich wpływ na peroksydację lipidów – praca przeglądowa. W: R. Bodkowski, D. Knecht, K. Czyż (red.), *Kwasy tłuszczowe w łańcuchu żywności*. Wrocław, 126–139.
- Prato E., Biandolino F., 2012. Total lipid content and fatty acid composition of commercially important fish species from the Mediterranean, Mar Grande Sea. *Food Chem.* 131, 1233–1239, <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.09.110>
- Ramel A., Jonsdottir M.T., Thorsdottir I., 2009. Consumption of cod and weight loss in young overweight and obese adults on an energy reduced diet for 8-weeks. *Nutr. Metab. Cardiovasc. Dis.* 19, 690–696, <https://doi.org/10.1016/j.numecd.2008.12.013>
- Ramos Filho M.M., Ramos M.I.L., Hiane P.A., De Souza E.M.T., 2010. Nutritional Value of Seven Freshwater Fish Species From the Brazilian Pantanal. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 87, 1461–1467, <https://doi.org/10.1007/s11746-010-1639-1>
- Roos N., Chamnan C., Loeung D., Jakobsen J., Thilsted S.H., 2007a. Freshwater fish as a dietary source of vitamin A in Cambodia. *Food Chem.* 103, 1104–1111, <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.10.007>
- Roos N., Thorsenga H., Chamnan C., Larsenc T., Gondolfa U.H., Bukhavea K., Thilsted S.H., 2007b. Iron content in common Cambodian fish species: perspectives for dietary iron intake in poor, rural households. *Food Chem.* 104, 1226–1235, <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.01.038>
- Ruxton C.H.S., 2011. The benefits of fish consumption. *Nutr. Bull.* 36, 6–19, <https://doi.org/10.1111/j.1467-3010.2010.01869.x>
- Salma E., Missaoui H., 2013. Seasonal variation on fatty acids composition in European eel muscles from the North East of Tunisia: Bizerte Lagoon. *Adv. Biores.* 4, 14–21.
- Satar E.İ., Uysal E., Ünlü E., Başhan M., Satar A., 2012. The effects of seasonal variation on the fatty acid composition of total lipid, phospholipid, and triacylglycerol in the dorsal muscle of Capoeta trutta found in the Tigris River (Turkey). *Turk. J. Biol.* 36, 113–123; <https://doi.org/10.3906/biy-1008-81>
- Shahiri Tabarestani H., Maghsoudlou Y., Motamedzadegan A., Sadeghi Mahoonak A.R., Rostamzad H., 2012. Study on some properties of acid-soluble collagens isolated from fish skin and bones of rainbow trout (*Onchorhynchus mykiss*). *Int. Food Res. J.* 19 (1), 251–257.
- Shin J.H., Oliveira A.C.M., Rasco B.A., 2010. Quality attributes and microbial storage stability of caviar from cultivated white sturgeon (*Acipenser transmontanus*). *J. Food Sci.* 75, 1, 43–48, <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2009.01409.x>
- Sicińska P., Pytel E., Kurowska J., Koter-Michalak M., 2015. Suplementacja kwasami omega w różnych chorobach. *Postępy Hig. Med. Dośw.* 69, 838–852, <https://doi.org/10.5604/17322693.1162673>.
- Sikorski Z.E., 2004. Ryby i bezkręgowce morskie pozyskiwanie właściwości i przetwarzanie. WN-T, Warszawa.

- Šimat V., Bogdanović T., Poljak V., Petričević S., 2015. Changes in fatty acid composition, atherogenic and thrombogenic health lipid indices and lipid stability of bogue (*Boops boops* Linnaeus, 1758) during storage on ice: Effect of fish farming activities. *J. Food Compos. Anal.* 40, 120–125, <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2014.12.026>
- Simopoulos A.P., 2002. The importance of the ratio of omega-6/omega-3 essential fatty acids. *Biomed. Pharmacother.* 56, 365–379, [https://doi.org/10.1016/s0753-3322\(02\)00253-6](https://doi.org/10.1016/s0753-3322(02)00253-6)
- Simopoulos A.P., 2016. An increase in the omega-6/omega-3 fatty acid ratio increases the risk for obesity. *Nutrients*, 8, 128–145, <https://doi.org/doi:10.3390/nu8030128>
- Skalecki P., Florek M., Kaliniak A., Kędzierska-Matysek M., Dmoch M., 2016. Jakość użytkowa i wartość odżywcza tkanki mięśniowej sandacza (*Sander lucioperca*) i szczupaków (*Esox lucius*) utrzymywanych w polikulturze. *Rocz. Nauk. Pol. Tow. Zoot.* 12, 1, 33–38, <https://doi.org/10.5604/01.3001.0013.6980>
- Skalecki P., Florek M., Kędzierska-Matysek M., Poleszak E., Domaradzki P., Kaliniak-Dziura A., 2020. Mineral and trace element composition of the roe and muscle tissue of farmed rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) with respect to nutrient requirements: Elements in rainbow trout products. *J. Trace Elem. Med. Biol.* 62, 126619, <https://doi.org/doi:10.1016/j.jtemb.2020.126619>
- Skalecki P., Florek M., Staszowska A., 2013a. Effect of fishing season on value in use, intrinsic properties, proximate composition and fatty acid profile of perch (*Perca fluviatilis*) muscle tissue. *Arch. Polish Fish.* 21(4), 249–257; <https://doi.org/10.2478/aopf-2013-0026>
- Skalecki P., Florek M., Staszowska A., Kaliniak A., 2015. Wartość użytkowa i jakość filetów ryb karpiowatych (Cyprinidae) utrzymywanych w polikulturze. *Żywn. Nauka Technol. Jakość* 1 (98), 75–88, <https://doi.org/10.15193/zntj/2015/98/006>
- Skalecki P., Staszowska A., Kaliniak A., Florek M., 2013b. Wartość użytkowa i jakość mięsa pstrągów tęczowych (*Oncorhynchus mykiss* Walb.) z chowu ekstensywnego i intensywnego. *Rocz. Nauk. Pol. Tow. Zoot.* 9, 3, 59–67.
- Stancheva M., Galunska B., Dobрева A.D., Merdzhanova A., 2012. Retinol, alpha-tocopherol and fatty acid content in Bulgarian Black Sea fish species. *Grasas y aceites* 63 (2), 152–157, <https://doi.org/10.3989/gya.069611>
- Steffens W., 1997. Effects of variation in essential fatty acids in fish feeds on nutritive value of freshwater fish for humans. *Aquaculture* 151, 97–119, [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(96\)01493-7](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(96)01493-7)
- Steffens W., 2006. Freshwater Fish – Wholesome Foodstuffs. *Bulg. J. Agric. Sci.* 12, 320–328.
- Sugano M., Hirahara F., 2000. Polyunsaturated fatty acids in the food chain in Japan. *Am. J. Clin. Nutr.* 71 (1 Suppl.), 189S–196S, <https://doi.org/doi:10.1093/ajcn/71.1.189S>
- Sutharshiny S., Sivashanthini K., 2011. Total lipid and cholesterol content in the flesh of the five important commercial fishes from waters around Jaffna Peninsula, Sri Lanka. *Int. J. Biol. Chem.* 5 (2), 161–169, <https://doi.org/10.3923/ijbc.2011.161.169>
- Szymandera-Buszk K., Jędrusek-Golińska A., Górecka D., Ankiewicz M., 2008. Charakterystyka spożycia ryb jako źródła jodu. *Bromat. Chem. Toksykol.* XLI, 3, 319–322.
- Szymanski K.M., Wheeler D.C., Mucci L.A., 2010. Fish consumption and prostate cancer risk: a review and meta-analysis. *Am. J. Clin. Nutr.* 92, 1223–1233, <https://doi.org/10.3945/ajcn.2010.29530>
- Tańska M., Rotkiewicz D., 2011. Jakość tłuszczu nasion olejowych zastosowanych do produkcji wybranych rodzajów pieczywa. *Żywn. Nauka Technol. Jakość* 5 (78), 62–74.
- Tanskanen A., Hibbeln J.R., Tuomilehto J., Uutela A., Haukkala A., Viinamäki H., Lehtonen J., Vartiainen E., 2001. Fish consumption and depressive symptoms in the general population in Finland. *Psychiatr. Serv.* 52, 529–531, <https://doi.org/10.1176/appi.ps.52.4.529>
- Torfadottir J.E., Valdimarsdottir U.A., Mucci L.A., Kasperzyk J.L., Fall K., Tryggvadottir L., Aspelund T., Olafsson O., Harris T.B., Jonsson E., Tulinius H., Gudnason V., Adami H.O., Stampfer M., Steingrimsdottir L., 2013. Consumption of fish products across the lifespan and prostate cancer risk. *PLoS One* 8, e59799, <https://www.hirsila.lsh.is/handle/2336/324655> [dostęp: 30.04.2021].
- Turner R., McLean C.H., Silvers K.M., 2006. Are the health benefits of fish oils limited by the products of oxidation? *Nutr. Res. Rev.* 19, 53–62, <https://doi.org/10.1079/NRR2006117>
- Ugoala C., Ndukwe G.I., Audu T.O., 2008. Comparison of fatty acids profile of some freshwater and marine fishes. *Intern J. Food Safety* 10, 9–17.

- Ulbricht T.L.V., Southgate D.A.T., 1991. Coronary heart disease: seven dietary factors. *Lancet* 338, 985–992, [https://doi.org/10.1016/0140-6736\(91\)91846-m](https://doi.org/10.1016/0140-6736(91)91846-m)
- Wakai K., Tamakoshi K., Date C., Fukui M., Suzuki S., Lin Y., Niwa Y., Nishio K., Yatsuya H., Kondo T., Tokudome S., Yamamoto A., Toyoshima H., Tamakoshi A., JACC Study Group., 2005. Dietary intakes of fat and fatty acids and risk of breast cancer: a prospective study in Japan. *Cancer Sci.* 96, 590–599, <https://doi.org/10.1111/j.1349-7006.2005.00084.x>
- Walczak A., Cybulska B., 1999. Utlenione LDL w rozwoju miażdżycy: ochronna rola witamin antyoksydacyjnych. *Med. Metab.* 3, 19–27.
- Wang H., Liu F., Yang L., Zu Y., Wang H., Qu S. Zhang Y. 2011. Oxidative stability of fish oil supplemented with carnosic acid compared with synthetic antioxidants during long-term storage. *Food Chem.* 128(1), 93–99, <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.02.082>
- Wcisło T., Rogowski W., 2006. Rola wielonienasyconych kwasów tłuszczowych omega-3 w organizmie człowieka. *Cardiovasclar Forum* 11, 39–43.
- Weichselbaum E., Coe S., Buttriss J., Stanner S., 2013. Fish in the diet: A review. *Nutr. Bull.* 38, 128–177, <https://doi.org/10.1111/nbu.12021>.
- Welcomme R.L., Cowx I.G., Coates D., Béné Ch., Funge-Smith S., Halls A., Lorenzen K., 2010. Inland capture fisheries. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B* 365, 2881–2896, <https://doi.org/10.1098/rstb.2010.0168>.
- Wikło K., 2011. Unsaturated omega-3 fatty acids in cardiovascular diseases therapy – current communications review. *Pol. Prz. Kardiol.* 13 (3), 171–181.
- Wu S., Feng B., Li K., Zhu X., Liang S., Liu X., Han S., Wang B., Wu K., Miao D., Liang J., Fan D., 2012. Fish consumption and colorectal cancer risk in humans: a systematic review and meta-analysis. *Am. J. Med.* 125, 551–559, <https://doi.org/doi:10.1016/j.amjmed.2012.01.022>

## Surowce i produkty roślinne oraz grzybowe jako źródło substancji bioaktywnych

### Wstęp

Rośliny i produkty pochodzenia roślinnego były zawsze podstawowym rodzajem żywności człowieka. Mięso jako trudniejsze do zdobycia stanowiło rzadszy element diety. Wraz z rozwojem cywilizacji zmienił się sposób pozyskiwania żywności. Zaczęto uprawiać rośliny i hodować zwierzęta. W diecie coraz częściej zaczęły pojawiać się produkty pochodzenia zwierzęcego, które były atrakcyjniejsze dla człowieka, gdyż były synonimem pozycji społecznej i możliwości. W tym czasie rośliny i produkty roślinne spożywali głównie ludzie ubodzy.

Obecnie na podstawie wieloletnich doświadczeń i obserwacji wpływu rodzaju diety na zdrowie człowieka stwierdzono jednoznacznie, że rośliny i produkty pochodzenia roślinnego stanowią nieodzowny jej składnik. Szereg spożywanych roślin poza znaczeniem odżywczym ma istotny wpływ na zdrowie dzięki zawartości związków zaliczanych do nieodżywczych składników żywności. Szereg z tych składników to substancje egzogenne, które powinny być dostarczane wraz z dietą. Wymienić tu można zarówno witaminę C, związki fenolowe, jak i błonnik pokarmowy.

### Rodzaje związków

#### Witaminy

Witaminami nazywa się grupę związków chemicznych potrzebnych organizmowi w niewielkich ilościach od kilku do kilkudziesięciu miligramów, niebędących materiałem budulcowym ani energetycznym, które z reguły muszą być dostarczane z dietą. Witaminy pełnią zwykle rolę katalizatorów biologicznych, wchodząc w skład grup prostetycznych enzymów biorących udział w przemia-

nach biochemicznych zachodzących w organizmie [Turlejska i in. 2007]. Każda z witamin, a jest ich 13, pełni szczególne funkcje w przemianie materii, są one nieodzowne do rozwoju, a ich brak prowadzi do zachwiania równowagi organizmu [Filis i Konaszewska 2007].

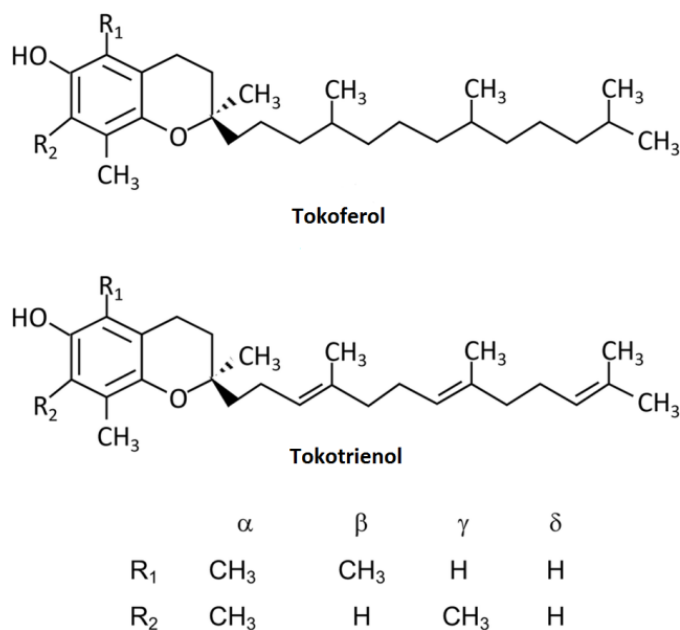
Nazwę witamina (amina potrzebna do życia) wprowadził Kazimierz Funk w 1911 r. Początkowo była ona stosowana tylko do witaminy B1 (która z chemicznego punktu widzenia jest aminą), ale przyjęła się dla całej grupy związków, mimo iż różnią się one budową chemiczną. Badania witamin, ich roli i budowy zapoczątkowane przed laty trwają po dzień dzisiejszy. Wraz z rozwojem technologii uznano, że niektóre związki nazwane kiedyś witaminami właściwie nimi nie są. Do związków tych należą m.in. niezbędne nienasycone kwasy tłuszczowe (NNKT), które kiedyś określano mianem witaminy F, czy flawonoidy, określane jako witamina P [Turlejska i in. 2007]. Od czasu wprowadzenia przez Funka nazwy „witamina” poznano liczne związki o podobnych właściwościach, a z braku możliwości poznania ich budowy oznaczano je kolejnymi literami alfabetu. Okazało się z czasem, że związki uznane kiedyś za witaminę tworzą kompleks różnych substancji. Dlatego oprócz liter alfabetu wprowadzono również cyfry. Obecnie funkcjonują nazwy literowe uzupełnione określeniem związku chemicznego [Filis i Konaszewska 2007]. Witaminy dzieli się na rozpuszczalne w tłuszczach oraz rozpuszczalne w wodzie. Do witamin rozpuszczalnych w tłuszczach należą witaminy A, D, E, K, natomiast rozpuszczalne w wodzie to witamina C oraz witaminy z grupy B (B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, B<sub>6</sub>, B<sub>12</sub>, PP, foliany, kwas panteonowy, witamina H). Witaminy, zwłaszcza z grupy B oraz antyoksydacyjne (A, C, E), pełnią również rolę składników bioaktywnych w żywności funkcjonalnej. Witaminy C i E zalicza się do egzogennych substancji przeciwutleniających, które biorą udział w utrzymaniu oksydacyjnej homeostazy organizmu [Grajek 2007]. Spośród wszystkich witamin największe zapotrzebowanie u człowieka występuje na witaminę C.

Termin witamina C odnosi się zarówno do kwasu askorbinowego, jak i dehydroaskorbinowego, gdyż obie te formy wykazują działanie biologiczne [Grzybowski i Pietrzak 2013]. W żywności pełni ona funkcje regulatora kwasowości oraz stabilizatora. Utleniając się, usuwa tlen rozpuszczony i wolny ze środowiska, jak również może redukować niektóre utlenione związki. Jako silnie redukująca substancja utrwała naturalną barwę wielu surowców i produktów, np. mięsa, a rozdrobnione warzywa i owoce chroni przed oksydacyjnym brunatnieniem. Zwiększa również trwałość oraz chroni przed jęlczeniem tłuszcze i substancje smakowe w produktach nietłuszczowych, np. płatkach zbożowych, mące, sokach, napojach, proszku mlecznym [Silva Ana i in. 2010]. Naturalnym źródłem witaminy C są świeże owoce i warzywa. Szczególnie dobrym źródłem kwasu askorbinowego są owoce cytrusowe a także jagody, acerola i świeże liście herbaty [Levine i in. 1999]. Wiele produktów pochodzenia roślinnego zawiera w swoim składzie witaminę C, która w obecności innych zawartych tam antyoksydantów wykazuje względną trwałość i nie ulega całkowitemu rozpadowi nawet podczas obróbki termicznej. Przykładem takiego surowca są owoce papryki rocznej (*Capsicum annum* L.), w której zawartość witaminy C jest często kilkakrotnie wyższa w po-



równaniu z owocami cytrusowymi, wynosi ona około 150 mg/100 g świeżej masy. Znane są też odmiany papryki, w których zawartość witaminy C dochodzi nawet do 350 mg/100 g świeżej masy [Medina-Juarez i in. 2012].

Kolejnym związkiem syntetyzowanym jedynie przez rośliny i mikroorganizmy fotosyntetyzujące jest witamina E, należąca do grupy tokoferoli. Terminem witamina E określa się wszystkie pochodne tokolu (T) i tokorienolu (T3), wykazujące aktywność biologiczną  $\alpha$ -tokoferolu (ryc. 1). Tokoferole występują we wszystkich częściach anatomicznych roślin, jednak istnieją znaczące różnice pod względem całkowitej ich zawartości, a także udziału poszczególnych homologów. W surowcach roślinnych przeważają dwa homologi tokoferolu:  $\alpha$ -T i  $\gamma$ -T. Pierwszy występuje w większości tkanek roślinnych, natomiast udział drugiego jest największy głównie w nasionach. Zawartość tokotrienoli jest mniejsza niż tokoferoli. Związki te występują głównie w nasionach (łusce i kielkach) [Szymańska i Kruk 2007].



Ryc. 1. Struktura chemiczna tokoferolu i tokotrienolu [Szymańska i Kruk 2007]

Tokoferole u roślin pełnią funkcję ochronną aparatu fotosyntetyzującego przed stresem oksydacyjnym, powstałym w wyniku ekspozycji rośliny na działanie promieniowania UV-B. Ponadto chronią wielonienasycone kwasy tłuszczowe przed utlenianiem podczas przechowywania i kiełkowania nasion [Munné-Bosch i Falk 2004, Nogala-Kałucka i Siger 2011]. Witamina E w organizmie człowieka przyczynia się do redukcji wolnych rodników nadtlenkowych, które

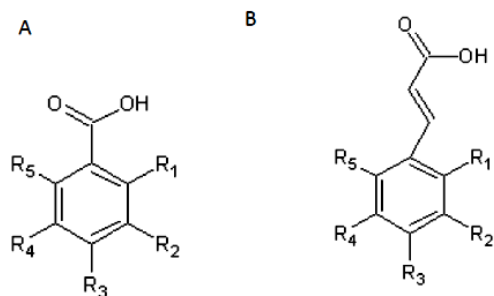
są niebezpieczne dla struktur komórkowych i DNA. Związki te są szczególnie ważne dla tkanek o wysokiej zawartości wielonienasyconych kwasów tłuszczowych, takich jak mózg i centralny układ nerwowy, w których pełnią funkcję ochronną przed peroksydacją lipidów. Wykazano, że  $\alpha$ -tokoferol reguluje szereg procesów odpowiedzialnych za proces miażdżycowy: bierze udział w syntezie czynników przeciwkrzepliwych, wpływa na zmniejszenie agregacji płytek krwi oraz utrzymanie odpowiedniej grubości i elastyczności ścian naczyń krwionośnych.  $\alpha$ -Tokoferol może potencjalnie chronić przed niektórymi typami nowotworów, indukując apoptozę w komórkach rakowych. Witamina E zmniejsza degradację erytrocytów, dzięki czemu ułatwia dostarczanie tlenu do całego organizmu [Azzi i Stocker 2000, Eitenmiller i in. 2008].

Wśród surowców roślinnych najbogatsze w witaminę E są nasiona roślin oleistych, np. rzepak, soja, słonecznik, owoce palmy oleistej, a także rośliny strączkowe, zbożowe i zielone warzywa liściaste [Eitenmiller i in. 2008, Nogała-Kałucka i Siger 2011]. Jej zawartość jest uzależniona od stopnia dojrzałości. Podczas przechowywania chłodniczego surowców roślinnych poziom tego związku maleje liniowo wraz z czasem przechowywania [Nath i in. 2014]. Zapotrzebowanie światowego rynku na witaminę E zaspokajane jest głównie przez produkcję witaminy syntetycznej (85–88%). W mniejszym stopniu pozyskiwana jest w wyniku ekstrakcji z naturalnych źródeł (12–15%) [Herbers 2003]. Jednak w ostatnich latach wzrasta zainteresowanie pozyskiwaniem składników aktywnych ze źródeł alternatywnych, jakimi są surowce i ekstrakty roślinne [Duliński 2010].

### **Związki fenolowe**

Związki fenolowe są wtórnymi metabolitami roślinnymi, które zawierają pierścienie benzenowe z jednym lub większą liczbą podstawników hydroksylowych, począwszy od prostych cząsteczek fenolowych do układów wysoce spolimeryzowanych [Velderrain-Rodríguez i in. 2014]. W grupie tej wyróżnia się dwa główne typy związków: kwasy fenolowe i flawonoidy. W systematyce kwasów fenolowych występują dwie podstawowe podklasy: hydroksylowe pochodne kwasu benzoowego oraz pochodne kwasu cynamonowego. Związki w obrębie poszczególnych podklas różnią się od siebie położeniem grup hydroksylowych oraz metoksylowych powiązanych z pierścieniem aromatycznym [Rice-Evans i in. 1996, Grajek 2007]. Przykładowe struktury chemiczne kwasów fenolowych przedstawiono na rycinie 2. Część kwasów hydroksycynamonowych jest znana jako połączenia estrowe z glukozą lub z kwasami karboksylowymi: m.in. malonowym, winowym czy hydroksycynamonowym. Z kolei kwasy hydroksybenzoowe często występują w połączeniach glikozydowych [Ozcan i in. 2014]. Związki te uczestniczą w cyklu przemian zwanych szlakiem fenylopropanoidowym, których końcowym produktem są ligniny, stanowiące obok celulozy materiał strukturalny ścian komórkowych roślin. Kwasy fenolowe są zróżnicowane nie tylko pod względem struktury i masy cząsteczkowej lecz też pod względem

właściwości biologicznych, fizycznych i chemicznych. Ich główną funkcją jest działanie przeciwutleniające, dlatego występują praktycznie we wszystkich warzywach i owocach oraz mają zdolność wiązania wolnych rodników [Gheribi 2011, Parus 2013].

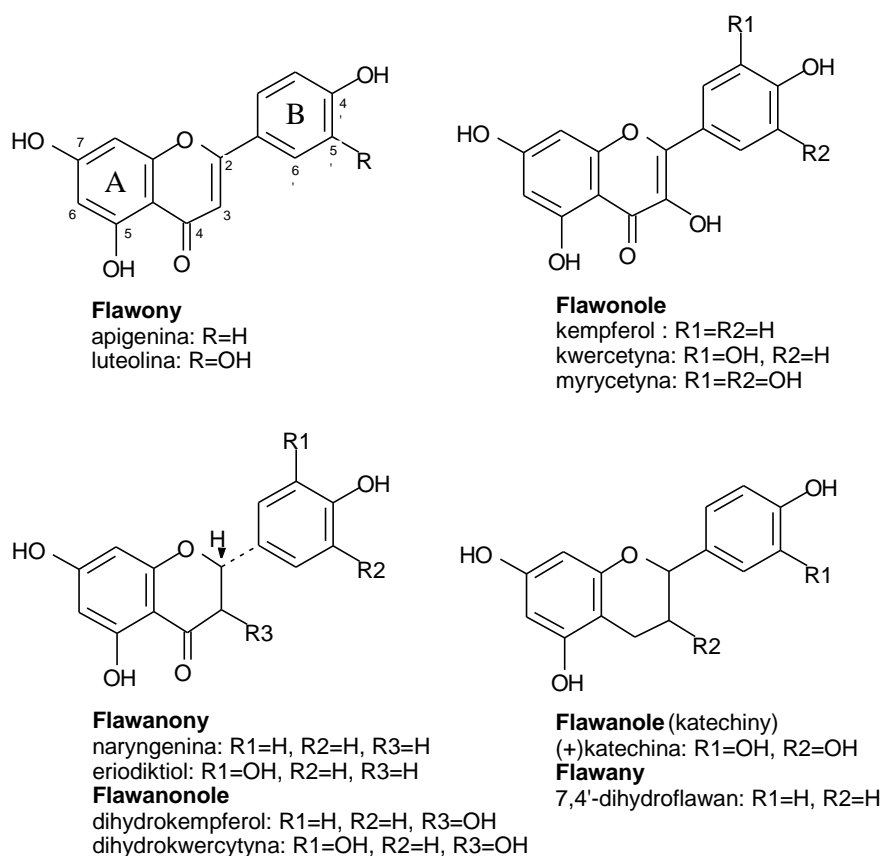


Nazwa zwyczajowa	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>4</sub>	R <sub>5</sub>
<b>A. Hydroksylowe pochodne kwasu benzoowego</b>					
Kwas protokatechowy	-H	-H	-OH	-OH	-H
Kwas galusowy	-H	-OH	-OH	-OH	-H
Kwas rezorcynowy	-H	-OH	-H	-OH	-H
Kwas salicylowy	-OH	-H	-H	-H	-H
Kwas wanilinowy	-H	-OCH <sub>3</sub>	-OH	-H	-H
Kwas gentyzynowy	-OH	-H	-H	-OH	-H
<b>B. Hydroksylowe pochodne kwasu cynamonowego</b>					
Kwas <i>p</i> -kumarowy	-H	-H	-OH	-OH	H
Kwas ferulowy	-H	-H	-OH	-OCH <sub>3</sub>	-H
Kwas sinapowy	-H	-OCH <sub>3</sub>	-OH	-OCH <sub>3</sub>	-H

Ryc. 2. Przykładowe struktury wybranych kwasów fenolowych [Grajek 2007]

Flawonoidy z kolei stanowią grupę barwników roślinnych o strukturze określonej w skrócie jako C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>, w skład której wchodzi dwa pierścienie fenolowe połączone mostkiem trójwęglowym, który w większości przypadków również jest zamknięty w pierścień i zawiera heteroatom tlenu. Różnice pomiędzy podgrupami flawonoidów leżą w stopniu utlenienia pierścienia piranowego, na tej podstawie flawonoidy podzielono na kilka grup, które wraz z przykładami związków przedstawia rycina 3 [Rice-Evans i in. 1996]. W roślinie flawonoidy pełnią dwie zasadnicze funkcje, związki barwne występujące w płatkach kwiatów stanowią wskaźnik nektarowania przez silne absorbowanie promieni UV, dzięki czemu przyczyniają się, podobnie jak karotenoidy do wabienia owadów zapylających. Inne flawonoidy występujące w zielonych częściach roślin chronią je przed szkodliwym wpływem promieniowania, głównie UV-B [Harborne i Williams 2000].

Tak jak już wcześniej wspomniano, związki fenolowe występują we wszystkich częściach anatomicznych roślin. Jednak ze względu na pełnione funkcje biologiczne ich zawartość w roślinach jest zmienna i zależy od odmiany, części anatomicznej oraz sposobu uprawy, miejsca występowania, warunków klimatycznych i czasu zbioru rośliny [Staszowska-Karkut i Materska 2020]. Kwasy fenolowe znajdują się w zbożach, roślinach strączkowych, nasionach oleistych, owocach, warzywach i ziołach. Twierdzi się, że właśnie te związki nadają gorzki i kwaśny smak roślinom [Parus 2013]. Z reguły liście są bogatszym źródłem związków fenolowych niż inne części anatomiczne roślin. Cvetanovic i in. [2018], analizując aktywność biologiczną i skład chemiczny łodyg, liści i owoców aronii czarnoowocowej, stwierdzili, że najwięcej związków fenolowych ogółem zawierały liście ( $131,53 \pm 0,96$  mg kwasu chlorogenowego w przeliczeniu na g ekstraktu), a dominującym kwasem we wszystkich częściach anatomicznych tej rośliny był kwas synapowy. Podobnie wyższy poziom związków fenolowych w liściach niż w owocach stwierdzono dla: jabłoni, pigwy, żurawiny, borówki i czarnej porzeczki [Teleszko i Wojdyło 2015].



Ryc. 3. Główne grupy flawonoidów wraz z przykładami związków [Rice-Evans i in. 1996]

Stężenie flawonoidów w tkankach roślinnych jest z reguły niższe w porównaniu z kwasami fenolowymi i waha się w granicach od zera do kilkuset mg/kg świeżej masy. Najwyższe ich stężenie notuje się w płatkach kwiatów, owocach i liściach. Jednak najlepiej scharakteryzowane pod tym względem są części jadalne roślin. Hertog i in. [1992], oznaczając zawartość flawonoidów w 28 gatunkach warzyw i 9 owoców, stwierdzili, że w największych ilościach występuje tu kwercetyna i kempferol, a najbogatsze w nie są cebula (350 mg/kg św.m.), jarmuż (100 mg/kg św.m.), fasola (40 mg/kg św.m.) oraz jabłka (36 mg/kg św.m.) i morele (25 mg/kg św.m.). Häkkinen i in. [1999a, 1999b], określając zawartość związków fenolowych w owocach jagodowych, stwierdził że najwięcej kempferolu zawierają truskawki (12 mg/kg św.m.), kwercetyny – borówka czarna (32 mg/kg św.m.), zaś myricetyny – czarna porzeczka (55 mg/kg św.m.). Dobrym źródłem flawonoidów okazało się być czerwone wino, zawierające ogólnie 300–600 mg/L flawonoli, a herbata – katechin (30–40% suchej masy) [Frankel i in. 1993, Pellegrini i in. 2000].

Kwasy fenolowe i flawonoidy wykazują szereg właściwości biologicznych, jak przeciwbakteryjne, przeciwwirusowe i przeciwzapalne [Ozcan i in. 2014]. Wynika to z ich funkcji w roślinie, ale też przenosi się na korzystne właściwości prozdrowotne po ich spożyciu. Związkom tym przypisuje się udział w przeciwdziałaniu chorobom związanym z układem krążenia, gdyż wykazują właściwości przeciwzakrzepowe [Hollman i in. 1996]. Kwasom fenolowym przypisuje się też właściwości ściągające [Parus 2013]. Flawonoidy jako regularne składniki diety zostały zidentyfikowane po raz pierwszy jako witamina P przez Szent-Györgyi w 1936 r. i wraz z witaminą C zostały uznane za znaczące w utrzymaniu równowagi naczyń włosowatych [Hollman i in. 1996].

## **Makro- i mikrośladniki**

Minerały i pierwiastki śladowe pełnią istotną rolę w aktywacji enzymów powiązanych z metabolizmem komórkowym oraz układem antyoksydacyjnym komórki [Stern 2007]. Z tego względu odpowiednie ich stężenie w komórkach roślinnych i zwierzęcych warunkuje prawidłowy rozwój organizmu. Pierwiastki w stanie wolnym występują w tkankach roślinnych w formie zjonizowanej, przez co dość łatwo ekstrahują się do roztworów hydrofilowych. Dlatego znaczące ich stężenia zawierają napary roślinne. Obecność minerałów i pierwiastków w roślinach w dużym stopniu zależy od warunków wzrostu, w tym od technik uprawy, nawożenia oraz stresu abiotycznego lub biotycznego [Staszowska-Karkut i Materska 2020]. W tabeli 1 zamieszczono informacje dotyczące zawartości niektórych pierwiastków w wybranych owocach, warzywach oraz innych surowcach roślinnych.

Tabela 1. Średnia zawartość składników mineralnych w niektórych roślinach spożywczych i surowcach roślinnych (mg/100 g)

Surowiec	Ca	P	Mg	K	Na	Fe	Al
Aronia liście <sup>*1,4</sup>	373	151	83	262	18	2	0,4
Aronia owoce <sup>1</sup>	88	60	37	384	15	1	1
Herbata czarna <sup>2</sup>	435	270	190	1726	27	23	108
Herbata zielona <sup>2</sup>	525	253	196	1390	13	31	136
Jabłko <sup>3</sup>	7	12	–	144	3	0,5	0,7
Kukurydza – ziarno <sup>3</sup>	15	256	–	330	6	–	0,3
Marchew <sup>3</sup>	41	35	–	290	60	0,7	0,8
Papryka czerwona <sup>5</sup>	10	20	10	175	3	0,3	–
Pomidory <sup>3</sup>	14	26	–	297	6	0,5	2
Porzeczka czarna liście <sup>4</sup>	1900	600	–	1400	1	35	14
Porzeczka czarna owoce <sup>3</sup>	46	40	–	310	1	1,3	–
Pszenica – ziarno <sup>3</sup>	44	406	105	502	8	4	3
Salata <sup>3</sup>	37	33	–	224	10	1	7
Truskawki owoce <sup>3</sup>	26	29	–	147	2	1	–
Yerba mate <sup>2</sup>	620	191	497	1345	8	38	45
Ziemniaki <sup>3</sup>	10	50	–	443	3	0,8	8

\* Materiał źródłowy: <sup>1</sup> Pavlovic i in. 2015, <sup>2</sup> Olivier i in. 2012, <sup>3</sup> Sikorski (red.) 2017, <sup>4</sup> Staszowska-Karkut i Materska 2020, <sup>5</sup> Olatunji i Afolayan 2018.

Analizując przytoczone dane, można stwierdzić, że żaden owoc czy warzywo nie pokrywa w pełni dziennego zapotrzebowania na wymienione pierwiastki, ale zawartość tych składników z pewnością uzupełnia ich dzienną pulę w dobrze zbilansowanej diecie. Porównując zawartość pierwiastków w stanie wolnym w liściach i owocach danej rośliny, można zauważyć, że podobnie jak w przypadku związków fenolowych liście stanowią bogatsze ich źródło. Takie zależności występują zarówno w przypadku czarnej porzeczki, jak i aronii czarnoowocowej [Pavlovic i in. 2015, Staszowska-Karkut i Materska 2020] (tab. 1). Interesującym źródłem mikro- i makroelementów jest herbata. Zawartość składników mineralnych w liściach herbat czarnej i zielonej jest porównywalna do ich zawartości w liściach krzewów owocujących. Należy jednak pamiętać, że napary nie zawierają tych samych ilości wymienionych składników. Olivier i in. [2012], analizując skład mineralny różnych herbat dostępnych w Afryce Południowej, porównali zawartość jedenastu pierwiastków w ich liściach i naparach. Wszystkie napary zawierały mniej składników mineralnych niż liście, a przykładowo w przypadku herbat czarnej, zielonej i yerba mate zawartość jonów wapnia wynosiła odpowiednio 12%, 8% i 20% wyjściowego stężenia tego składnika. Przygotowanie ekstraktów roślinnych, np. w postaci naparów powoduje częściowe przeniesienie wszystkich składników występujących w surowcu, nie tylko tych o działaniu korzystnym. Wśród pierwiastków o niekorzystnym działaniu na zdrowie człowieka można wymienić glin. Dotychczasowe badania dowodzą szkodliwości tego pierwiastka na układ nerwowy i rozrodczy zwierząt. u ludzi

przypisuje mu się istotną rolę w przyspieszaniu rozwoju chorób neurodegeneracyjnych, jak choroba Parkinsona i Alzheimerera [Mania i in. 2019]. Według danych EFSA (European Food Safety and Authority) [EFSA 2008], tolerowaną dzienną dawką pobrania glinu jest 0,14 mg/kg masy ciała. Niestety, jak zaznaczają naukowcy, w znacznej części populacji europejskiej dawka ta jest regularnie przekraczana. Wśród wymienionych w tabeli 1 surowców roślinnych wyraźne zaniepokojenie może budzić herbata czarna, ze względu na znaczącą kumulację tego jonu w liściach. Badania Oliviera i in. [2012] wskazują, że procent ekstrakcji jonu glinu do naparu wynosił odpowiednio 38, 26 i 15% dla herbaty czarnej, zielonej i yerba mate, co w przeliczeniu na zawartość w filiżance (250 ml) herbaty wynosiła 1,25 mg i 0,9 mg, odpowiednio w herbacie czarnej i zielonej. Ilości te mogą mieć istotne znaczenie u osób o niskiej masie ciała, które spożywają znaczne ilości herbaty dziennie. Z tego względu Światowa Organizacja Zdrowia (WHO) zaleca ograniczanie podawania herbat małym dzieciom [Olivier i in. 2012, Mania i in. 2019].

## **Aktywność chemiczna i biologiczna**

Oczywiście aktywność chemiczna i biologiczna ekstraktów roślinnych powiązana jest ściśle z występującymi w nich składnikami aktywnymi [Shahidi i Amibigaipalan 2015]. Przewaga naturalnych ekstraktów roślinnych nad syntetycznymi związkami biologicznie czynnymi leży w ich unikalnym składzie chemicznym, który uzależniony jest od gatunku rośliny oraz warunków jej wzrostu, ale także od sposobu pozyskiwania i przechowywania ekstraktów. Z tego względu nie jest możliwe uzyskanie syntetycznego ekstraktu roślinnego o analogicznym składzie i właściwościach jak roślina wyjściowa. Badania ostatniej dekady w znacznym stopniu koncentrują się na poszukiwaniach wśród surowców roślinnych takich kompozycji, które mogą spełniać oczekiwania w odniesieniu do stosowania ich w zastępstwie syntetycznych dodatków do żywności, komponowania produktów spożywczych o obniżonej zawartości sztucznych konserwantów, czy też w medycynie w profilaktyce chorób cywilizacyjnych oraz wspomaganiu leczenia ciężkich schorzeń. W dociekaniach swych naukowcy często sięgają po rośliny, które znane są od stuleci i nadal są stosowane w medycynie ludowej. Niektóre z nich zapomniane, odkrywane są na nowo.

Praktycznie każda roślina czy substancja rozpatrywana jako potencjalne źródło związków biologicznie czynnych analizowana jest w pierwszej kolejności pod względem właściwości antyoksydacyjnych [Shahidi i Amibigaipalan 2015]. Aktywność ta oznaczana metodami *in vitro* może opierać się na bezpośrednich i pośrednich mechanizmach działania antyoksydacyjnego. Mechanizmy bezpośrednie polegają na neutralizacji wolnych rodników tlenowych oraz nierodnikowych reaktywnych form tlenu i/lub na hamowaniu aktywności enzymów biorących udział w ich wytwarzaniu (np. oksydazy ksan-

tynowej). Pośrednia aktywność antyoksydacyjna przejawia się chelatowaniem jonów metali przejściowych (Fe, Cu), przerywaniem kaskady reakcji wolnorodnikowych lub ochroną niskocząsteczkowych antyoksydantów przed utlenianiem [Bartosz 2003, Martinello i Mutinelli 2021]. Ze względu na rodzaj zachodzącej reakcji, można wyróżnić metody przeniesienia pojedynczego elektronu (SET – single electron transfer) i przeniesienia atomu wodoru (HAT – hydrogen atom transfer). Metody SET obejmują oznaczanie sumarycznej zawartości fenoli, testy redukcji rodników 2,2-difenylo-1-pikrylohydrazylu (DPPH) lub 2,2'-azynobis (3-etylobenzotiazolino-6-sulfonianu) (ABTS) oraz zdolność redukcji żelaza (FRAP) i inne. Metody HAT obejmują m.in. zdolność pochłaniania rodników tlenowych (ORAC) oraz test rozkładu emulsji  $\beta$ -karotenowej [Bartosz 2003]. Wyniki badań podawane są na trzy sposoby: 1) jako procent aktywności redukcji rodników (% RSA), obliczony zgodnie z odpowiednim równaniem, 2) jako równoważnik przeciwutleniacza, obliczony na podstawie krzywych kalibracyjnych tego związku, często tutaj jako wzorzec antyoksydanta wykorzystywany jest Trolox – analog witaminy E rozpuszczalny w wodzie, 3) jako stężenie ekstraktu zapewniające 50% aktywności redukcji wolnych rodników, określone jako EC50. Ta różnorodność zastosowanych metod badawczych i odmienny sposób prezentacji wyników stanowi duży problem przy porównywaniu wyników między danymi literaturowymi. Ekstrakty i produkty roślinne analizowane są pod względem aktywności antyoksydacyjnych w wielu układach modelowych. O wyborze stosowanych metod decydują sami autorzy badań. Opierając się na danych literaturowych można stwierdzić, że o kryterium wyboru metody decyduje przede wszystkim jej dostępność (łatwość wykonania), popularność (częstość stosowania) oraz wiarygodność (możliwość uzyskania wyników międzylaboratoryjnych). Wśród wymienionych wcześniej metod badawczych wszystkie spełniają te trzy kryteria i bardzo często wykorzystywane są w wielu analizach pilotażowych ekstraktów roślinnych. Poniżej przedstawiono kilka przykładów tego rodzaju badań.

Materiałem roślinnym, który analizowano w pierwszej kolejności były owoce i warzywa spożywane w codziennej diecie [Grajek 2007]. Wyniki tych analiz potwierdziły jednoznacznie fakt, że produkty roślinne stanowią ważne źródło antyoksydantów, które są niezbędne w diecie człowieka. Kolejnym krokiem tego rodzaju badań, było poszukiwanie roślin, których ekstrakty wykazywały korzystne właściwości prozdrowotne i stosowane były często w medycynie ludowej. Tego rodzaju badaniom poddano większość roślin ziołowych, stosowanych jako przyprawy kuchenne [Embuscado 2015]. Przeprowadzono też analizę aktywności antyoksydacyjnej ekstraktów z owoców i liści drzew oraz krzewów owocowych. W badaniach tych koncentrowano się na porównaniu aktywności antyoksydacyjnej ekstraktów z liści i owoców tej samej rośliny. W tym kontekście analizowano między innymi ekstrakty z czarnej porzeczki [Teleszko i Wojdyło 2015, Tian i in. 2018], maliny [Veljkovic i in. 2019], aronii czarnoowocowej [Teleszko i Wojdyło 2015, Cvetanovic i in. 2018] oraz żurawiny, borówki, jabłoni i pigwy [Teleszko i Wojdyło 2015]. Praktycznie wszystkie wyniki wy-



mienionych badań wskazują jednoznacznie, że liście są bogatszym źródłem antyoksydantów niż owoce. Inny aspekt badań dotyczył doboru rodzaju ekstrahenta w celu otrzymania ekstraktów o najwyższej aktywności. I tak w przypadku ekstraktów z liści czarnej porzeczki, najwyższą pojemność antyoksydacyjną stwierdzono w przypadku stosowania 40% roztworu etanolu w wodzie [Nour i in. 2014]. W wielu innych eksperymentach dotyczących optymalizacji metod przygotowania ekstraktów roślinnych dowiedziono, że roztwory alkoholowo-wodne były najwydajniejszym rozpuszczalnikiem w przypadku pozyskiwania frakcji związków fenolowych [Ferlemi i Lamari 2016]. Kolejnym czynnikiem determinującym skład chemiczny ekstraktów był termin zbioru surowca roślinnego. Z reguły rośliny zbierane w początkowym okresie wegetacyjnym, tzn. wiosną przed kwitnieniem i zawiązywaniem nasion charakteryzują się najwyższą kumulacją związków bioaktywnych. Zostało to potwierdzone w przypadku ekstraktów z liści czarnej porzeczki, gdzie młodsze liście wykazywały wyższą aktywność przeciwutleniającą niż te zebrane później [Nour i in. 2014]. Podobnie w przypadku aronii czarnoowocowej ekstrakty etanolowe z młodych liści charakteryzowały się wyższą aktywnością w porównaniu z ekstraktami wodnymi oraz liśćmi zbieranymi pod koniec lata [Thi i in. 2014]. Z uwagi na bogaty skład chemiczny, ekstrakty roślinne często wykazują silniejszą pojemność antyoksydacyjną niż pojedyncze związki zaliczane do grupy antyoksydantów. Shikov i in. [2006], analizując aktywność antyrodnikową dostępnych komercyjnie ekstraktów z wierzbowki w układzie z rodnikiem DPPH, uzyskali wyniki wyrażone jako wartość  $IC_{50}$ , wynoszące od 140–250 g/ml, podczas gdy dla Troloxu oznaczona aktywność wynosiła 120 g/ml, co wskazywało na silniejszy potencjał antyoksydacyjny tych ekstraktów niż witamina E, która uznana jest za najsilniejszy naturalny antyutleniacz komórkowy [Grajek 2007]. Wykazano też wysoką aktywność ekstraktów z wierzbowki jako inhibitorów peroksydacji lipidów katalizowanych przez jony żelaza (III), sugerując ich potencjał w ochronie wrażliwych na utlenianie wysoko tłuszczowych składników żywności [Shikov i in. 2006].

Wraz z rozpowszechnieniem na świecie stosowania antybiotyków, w ostatnich latach notuje się narastający problem oporności wielu drobnoustrojów na stosowane środki. Obecnie antybiotykooporność stanowi jedno z podstawowych niebezpieczeństw dla zdrowia publicznego na całym świecie, a wynikające z tego zagrożenia dla życia ludności porównywalne są ze skutkami dużych katastrof czy epidemii. Wspólny raport EFSA (European Food Safety Authority) oraz ECDC (European Centre for Disease Prevention and Control) ogłoszony 22 lutego 2017 r. potwierdza występowanie oporności u patogenów wywołujących zakażenia pokarmowe u ludzi [EFSA 2017]. Na tle tych doniesień bioaktywne substancje roślinne stają się atrakcyjną alternatywą dla antybiotyków i syntetycznych przeciwutleniaczy w żywności. Aktywność biologiczna ekstraktów roślinnych jest następstwem aktywności antyoksydacyjnych występujących w nich związków, co potwierdza wiele badań. Jednak w zależności od składu chemicznego rośliny źródłowej oraz rodzaju patogenu wykazano zmienną aktywność przeciwbakteryjną wspomnianych ekstraktów. Ferrante i in. [2020]

oznaczyli aktywność antimikrobiologiczną ekstraktów wodnych z pięciu roślin, w tym wierzbowki, nawłoci oraz wilczyca ciernistej. Autorzy badań oceniali właściwości antibakteryjne ekstraktów w odniesieniu do: *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* i *Bacillus cereus* oraz antygrzybowe w odniesieniu do: *Candida albicans*, *C. tropicalis*. Jednak na podstawie uzyskanych wyników stwierdzili umiarkowany efekt antimikrobiologiczny badanych ekstraktów, jedynie w przypadku wierzbowki najsilniejszą aktywność MIC (ang. Minimum Inhibitory Concentration) wynoszącą 49,6 g/ml zanotowali dla *C. tropicalis* [Ferrante i in. 2020]. Z kolei silne właściwości antibakteryjne zostały potwierdzone w przypadku ekstraktów z liści jeżyn i borówki [Ferlemi i Lamari 2016]. Szczególnie w przypadku tych ostatnich stwierdzono, że ich aktywność antibakteryjna w odniesieniu do *Staphylococcus aureus* była porównywalna do znanych syntetycznych antybiotyków: wankomycyny i linezolidu [Ferrante i in. 2020]. Ekstrakty z liści borówki amerykańskiej okazały się z kolei aktywnymi antybiotykami w stosunku do *Salmonella typhimurium* oraz *Enterococcus faecalis* [Ferrante i in. 2020], a związki zawarte w liściach malin mają działanie hamujące rozwój pałeczek *Listeria monocytogenes* [Tian i in. 2018]. Właściwości antimikrobiologiczne to cecha, którą często przypisuje się roślinom ziołowym, gdyż ze względu na swoje właściwości medyczne stosowane były od wieków w medycynie ludowej. Przykładem takiej rośliny jest czosnek. Występująca w nim allicyna charakteryzuje się właściwościami przeciwbakteryjnymi, hamuje rozwój wielu groźnych dla zdrowia drobnoustrojów, m.in. *Staphylococcus aureus* oraz *Listeria monocytogenes* [Świąder i in., 2017].

## Zastosowanie w żywności

Zastosowanie ekstraktów roślinnych w technologii żywności ma charakter wielofunkcyjny. Naturalne przeciwutleniacze można dodawać do tłuszczów w celu poprawy ich stabilności poprzez zmniejszenie rozkładu lipidów w trakcie ich przechowywania. Podobną rolę odgrywają w produkcji produktów mięsnych [Dudek-Makuch i in. 2019]. Shah i in. [2014] w swoim opracowaniu przeglądowym przytoczyli przykłady 42 różnych surowców roślinnych (owoce, warzywa, przyprawy oraz zioła), których ekstrakty dodawano do mięsa kilku gatunków zwierząt, poddanego różnej obróbce wstępnej. Dodatek ekstraktów wpływał z reguły korzystnie na przedłużenie trwałości, zachowanie charakterystycznej barwy mięsa oraz jego walorów smakowo-zapachowych. Wspomniani autorzy zebrali też informacje na temat dostępnych komercyjnie gotowych naturalnych ekstraktów roślinnych, które mają zastosowanie w przemyśle mięsnym. Przykładem takiego dodatku jest ekstrakt z pestek winogron, który występuje na rynku pod kilkoma nazwami zastrzeżonymi: ActiVin™ oraz Gravinol-S wyprodukowany w USA, a także produkt japoński: Gravinol Super™ [Shah i in. 2014]. Przykładem innej rośliny, z której pozyskiwane są składniki naturalnych

ekstraktów do zastosowań do produktów mięsnych, są ekstrakty z zielonej herbaty, wykorzystywane w produkcji kielbas i pasztetów wieprzowych [Shah i in. 2014]. Ekstrakty z zielonej herbaty oprócz zastosowania w przetwórstwie mięsnym przebadano pod względem wykorzystania ich jako dodatku np. do ryb. Badania wykazały, że dzięki silnym właściwościom przeciwutleniającym możliwe jest przedłużenie trwałości przechowywanych w chłodni i w formie mrożonej filetów z lina [Gai i in. 2014]. Poza właściwościami antyoksydacyjnymi, dodatek naturalnych ekstraktów roślinnych do produktu spożywczego niesie ze sobą nieodzowną modyfikację jego cech sensorycznych. Zdarza się, że zmiany sensoryczne są korzystne, co zwiększa możliwości zastosowania dodatku, ale zdarzają się też takie przypadki, w których ze względu na pogorszenie cech sensorycznych produktu finalnego dodatek ekstraktu roślinnego jest znacznie ograniczony. Przykładowo, badania przeprowadzone przez Ferysiuk i in. [2020] wykazały pozytywny wpływ ekstraktu ze słodkiej papryki na cechy organoleptyczne schłodzonej wieprzowiny w puszkach poddanej przechowywaniu. Dodatek ekstraktu przedłużał trwałość produktu dzięki swoim silnym właściwościom przeciwutleniającym. Możliwa była również redukcja (o połowę) dodatku azotanów (III), przy osiągniętej podobnej stabilności oksydacyjnej [Ferysiuk i in. 2020].

Poza przemysłem mięsnym ekstrakty roślinne znalazły zastosowanie też w przemyśle cukierniczym jako dodatki antyutleniające do wyrobów ciastkarskich zawierających wysoką zawartość tłuszczów. Dzięki temu osiągnięto wzrost wartości odżywczej wyrobów wraz ze spowolnieniem niekorzystnych zmian oksydacyjnych zawartego w nich tłuszczu, przez co wydłużony został ich okres przydatności do spożycia [Kozłowska i in. 2020].

## **Skład chemiczny i substancje bioaktywne w owocnikach grzybów jadalnych**

Obecnie znanych jest około 14 000 gatunków grzybów wielkoowocnikowych, z czego nieco ponad 2000 scharakteryzowano jako gatunki jadalne i/lub lecznicze [Kirk i in. 2008, Zhang i in. 2013, Meenu i Xu 2019]. Jak donoszą Chang i Miles [2008] oraz Ergönül i in. [2013], jedynie około 25 gatunków jest powszechnie akceptowanych jako żywność, z których część jest uprawiana do celów komercyjnych. Uprawa grzybów jadalnych z ich wielowiekową tradycją wywodzi się z Chin [Boa 2004, Zhang i in. 2013]. Kraj ten jest obecnie uważany za głównego producenta uprawnych grzybów jadalnych. Polska zajmuje pod tym względem czwarte miejsce po Japonii i Stanach Zjednoczonych [FAO 2019]. Można uprawiać prawie 100 gatunków grzybów [Boa 2004], jednak 85% obecnej światowej produkcji opiera się na uprawie zaledwie 5 najważniejszych gatunków: *Lentinus* (22%), *Pleurotus* (19%), *Auricularia* (18%), *Agaricus* (15%) i *Flammulina* (11%) [Royse i in. 2017].

## Skład chemiczny i wartość odżywcza grzybów

Chociaż w systematyce grzyby stanowią obecnie odrębne królestwo, to przez przeciętnych konsumentów nadal często są postrzegane jako rośliny, a ze względu na kulinarne wykorzystanie – jako warzywa. Z drugiej strony ich smak umami sprawia, że są również odpowiednim substytutem mięsa. Dodatkowym argumentem jest znaczna ilość żelaza oraz zawartość biodostępnych białek, która jest większa niż w większości owoców i warzyw [Feeney i in. 2014].

Skład chemiczny i wartość odżywcza grzybów zależą od gatunku, ale także od wielu innych czynników. Są nimi: skład podłoża, warunki atmosferyczne, etap rozwoju fizjologicznego grzybnicy czy stopień dojrzałości owocników [Siwulski i in. 2011, Sławińska i in. 2017b].

Ze względu na dużą zawartość wody grzyby są niskokaloryczne (50–70 kcal/100 g). Owocniki większości gatunków grzybów jadalnych w 100 g świeżej masy zawierają od 8 do 14 g suchej masy. Jedynie w niektórych przypadkach (*Boletus armeniacus*, *Calvatia utriformis*) wartości te przekraczają 20 g [Kalač 2013]. Wysoka wilgotność, wartość parametru aktywności wody wynosząca 0,98 lub więcej oraz neutralne pH są przyczyną łatwego psucia się tego surowca [Venturini i in. 2011]. Do niskiej trwałości grzybów przyczynia się również duża zawartość białka oraz wysoka aktywność enzymów metabolicznych, takich jak proteazy, rybonukleaza i deoksyrybonukleaza [Tseng i Mau 1999].

Białko stanowi około 20–40% suchej masy grzybów [Sławińska i in. 2017b]. Jednak niektóre źródła podają także wartości wyższe, przekraczające 50%. Dotyczy to kilku gatunków grzybów: *Agaricus arvensis* [Barros i in. 2007], *Cantharellus cibarius* oraz *Lepista nuda* [Barros i in. 2008]. Jednak nawet w obrębie jednego gatunku zawartość białka surowego może być istotnie zróżnicowana. Przykładowo w innej pracy zawartość tego składnika dla gatunku *Cantharellus cibarius* wynosi jedynie 16,2% [Bauer-Petrovska 2001]. Badania Siwulskiego i in. [2014] wykazały, że borowik szlachetny (*Boletus edulis*) i kozłzarz czerwony (*Leccinum rufum*) pozyskiwane z terenów leśnych, zawierają więcej białka niż pieczarka dwuzarodnikowa (*Agaricus bisporus*) i bocznik ostrygowaty (*Pleurotus ostreatus*) stanowiące gatunki uprawne. Owocniki grzybów jadalnych przeciętnie zawierają od 0,8 do 3,5 g białka w 100 g świeżej masy [Bernaś i in. 2006]. Wartości te w przypadku pieczarki i bocznika wynoszą odpowiednio 1,6–3,5 oraz 1,5–2 g białka w 100 g świeżej masy [Manzi i in. 2001, Kunachowicz i in. 2012]. Rozkład białek w owocnikach grzybów jest nierównomierny. Jak wykazały badania Vetter i Rimóczi [1993], trzony bocznika zawierają 11,8% białka w suchej masie, a kapelusze 36,4%.

Według niektórych autorów skład aminokwasów grzybów jest porównywalny z białkami zwierzęcymi [Longvah i Deosthale 1998, Mattila i in. 2002]. Białko grzybów zawiera wszystkie aminokwasy egzogenne, stąd w niektórych krajach grzyby nazywano „mięsem lasu” lub „mięsem ubogich” [Rajewska i Bałasińska 2004, Siwulski i in. 2014, Dimitrijevic i in. 2018]. Spośród aminokwasów w największej ilości występują: leucyna, walina, glutamina, kwas glutaminowy

i asparaginowy. Przewidywalność białka grzybów sięga 90% [Rajewska i Bałasińska 2004, Siwulski i in. 2014]. Aminokwasami ograniczającymi przewidywalność białka grzybowego są głównie metionina i cysteina. W przypadku produktów spożywczych (konserwy i mrożonki) z borowika szlachetnego w porównaniu z wzorcami białka FAO/WHO dla dorosłych nie stwierdzono żadnego aminokwasu ograniczającego [Bernas i Jaworska 2010].

Zawartość wolnych aminokwasów w grzybach jest niska i stanowi około 1% suchej masy. Związki te odgrywają jednak istotną rolę w kształtowaniu smaku grzybów i produktów grzybowych [Kalač 2009]. Są to głównie kwas L-glutaminowy oraz L-asparaginowy, których sole odpowiedzialne są za smak umami, opisywany jako pikantny, mięsny, rosołowy [Manninen i in. 2018]. Ponadto kwas glutaminowy bierze udział w procesie trawienia, wchłanianiu składników odżywczych i homeostazie energetycznej poprzez zwiększenie wydzielania soków żołądkowych i insuliny [González 2020]. Należy też wspomnieć, że wolne aminokwasy są też prekursorami amin biogennych – związków, których zwiększone spożycie może mieć negatywny wpływ na zdrowie [Dadáková i in. 2009].

Innymi związkami azotowymi grzybów są aminy, kwasy nukleinowe, mocz-  
nik i chityna [Kalač 2009, Bernas i Jaworska 2010, Siwulski i in. 2014].

Zawartość tłuszczów ogółem w grzybach jest niewielka i stanowi w większości przypadków 2-3% suchej masy [Kalač 2013]. Wśród gatunków dziko rosnących o większej zawartości tłuszczów należy wymienić opieńkę miodową (*Armillaria mellea*), mleczajka rydza (*Lactarius deliciosus*) [Akata i in. 2012] i gąskę ziemistoblaszkową (*Tricholoma terreum*) [Diez i Alvarez 2001], a z gatunków uprawnych płomiennicę zimową (*Flammulina velutipes*) i bocznika (*Pleurotus ostreatus*) [Ulzizjargal i Mau 2011]. Na substancje tłuszczowe składają się kwasy tłuszczowe, jedno-, dwu- oraz trójglicerydy, a także sterole i fosfolipidy [Sas-Golak i in. 2011]. Grzyby cechują się korzystnym stosunkiem kwasów tłuszczowych wielonienasyconych do kwasów nasyconych. Jak podaje Siwulski i in. [2014], niezbędne nienasycone kwasy tłuszczowe stanowią około 75% całkowitej zawartości kwasów tłuszczowych. Spośród przebadanych 24 gatunków grzybów w składzie kwasów tłuszczowych przeważają wielonienasycony kwas linolowy, jednonienasycony kwas oleinowy oraz nasycony kwas palmitynowy [Kalač 2009]. Kwas linolowy stanowi prekursor dla aktywnych biologicznie substancji: prostaglandyn, leukotrienów i tromboksanów. Związek ten uczestniczy także w budowie błon komórkowych [Majewski i in. 2018]. Warto zauważyć, że w grzybach nie stwierdzono obecności izomerów *trans* nienasyconych kwasów tłuszczowych [Barros i in. 2007].

Okolo 50% suchej masy grzybów stanowią węglowodany, wśród których znajdują się cukry proste, dwucukry, wielocukry oraz kompleksy cukrowo-białkowe. Szczególnie ważną rolę odgrywają polisacharydy, które wykazują dużą aktywność biologiczną [Sas-Golak i in. 2011, Siwulski i in. 2014]. Glukoza, trehaloza i mannitol są głównymi przedstawicielami odpowiednio mono-, disacharydów oraz polioli [Mocan i in. 2018]. Fruktosa i sacharoza występują zazwyczaj w niewielkich ilościach [Valverde i in. 2015]. Głównymi polisacha-

rydami obecnymi w grzybach są glikogen (rezerwowy wielorozgałęziony polisacharyd) i chityna (polisacharyd strukturalny). Grzyby zawierają również glukany, mannany i substancje pektynowe [Wani i in. 2010, Kalač 2013, Valverde i in. 2015].

Błonnik pokarmowy dzieli się na nierozpuszczalny w wodzie, który w grzybach stanowi głównie chityna, oraz rozpuszczalny, w którym dominują  $\beta$ -glukany i chitosany [Sadler 2003]. Zawartość w ścianach komórkowych nietrawionej przez człowieka chityny sprawia, że grzyby są produktami ciężkostrawnymi i długo zalegają w przewodzie pokarmowym. Z tego powodu potrawy z grzybów nie są zalecane dla dzieci do 7 roku życia oraz osób starszych i z problemami gastrycznymi [Golianek i Mazurkiewicz-Zapałowicz 2016].

Grzyby jadalne dostarczają istotnej pod względem odżywczym zawartości witaminy B<sub>2</sub> (ryboflawiny), są także źródłem innych witamin z grupy B (B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, B<sub>12</sub>), a także C, D i E. Grzyby są jedynym niezwierzęcym źródłem pożywienia, które zawiera witaminę D. Doskonałym źródłem witaminy D<sub>2</sub> są grzyby leśne, ponieważ do produkcji tego związku potrzebne jest promieniowanie UV-B, którego źródłem jest światło słoneczne. Uprawa grzybów jadalnych przebiega zazwyczaj bez dostępu światła [Valverde i in. 2015].

Grzyby są istotnym źródłem składników mineralnych. Głównymi minerałami obecnymi w grzybach są potas oraz fosfor lub magnez, w zależności od gatunku. Zawierają również w mniejszych ilościach wapń, żelazo, miedź, cynk, mangan, selen i sód [Guillamón i in. 2010]. Wysoka zawartość potasu i niska sodu sprawiają, że grzyby są bardzo interesującym produktem spożywczym w profilaktyce i dietetycznym leczeniu nadciśnienia [Kalač 2013]. Należy jednak pamiętać, że grzyby cechuje wysoka zdolność do gromadzenia w ich tkankach metali ciężkich [Guillamón i in. 2010]. Zdolność do kumulowania metali ciężkich przez grzyby jest cechą gatunkową, ale także w dużej mierze zależy od środowiska (od skażenia podłoża). Jednak nawet owocniki grzybów pochodzące z regionów nieskażonych metalami ciężkimi mogą zawierać wysokie ilości rtęci [Sas-Golak i in. 2011]. W kapeluszach oraz w młodych owocnikach stwierdza się wyższą zawartość metali ciężkich niż w trzonach i grzybach starszych [Kalač i Svoboda 2000, Falandysz i in. 2004].

## Substancje biologicznie aktywne w grzybach

Podczas gdy w krajach zachodnich grzyby długo były cenione jedynie za swój smak i zapach, na Dalekim Wschodzie były od tysięcy lat źródłem składników leczniczych. Owocniki grzybów używane były od dawna w tradycyjnej medycynie chińskiej, japońskiej, koreańskiej, malezyjskiej czy hinduskiej. Gatunki grzybów o właściwościach leczniczych, którym w artykułach naukowych poświęcono najwięcej uwagi, to przede wszystkim lakownica lśniąca *Ganoderma lucidum*, twardziak jadalny *Lentinus edodes*, pieczarka brazylijska *Agaricus blazei*, wrośniak różnobarwny *Trametes versicolor*, żagwica listkowata *Grifola*

*frondosa*, zimówka aksamitnotrzonowa *Flammulina velutipes* i soplówka jeżowata *Hericium erinaceus* [Sas-Golak i in. 2011, Golianek i Mazurkiewicz-Zapałowicz 2016]. Zawartość różnorodnych substancji biologicznie czynnych o szerokim spektrum działania, decyduje o farmakologicznym zastosowaniu grzybów. Grzybom przypisuje się właściwości przeciwtleniające, przeciwnowotworowe, przeciwmikrobiologiczne, przeciwwirusowe, przeciwpasożytnicze, hipocholesterolemiczne, przeciwcukrzycowe, przeciwalergiczne, immunomodulacyjne, przeciwzapalne, hepatoprotekcyjne i wiele innych [Guillamón i in. 2010, Chang i Wasser 2012, Patel i in. 2012, Thakur i Singh 2013, Wasser 2017, Samsudin i Abdullah 2019]. Do związków biologicznie aktywnych odpowiedzialnych za wyżej wymienione właściwości zaliczyć można polisacharydy (głównie  $\beta$ -glukany), białka (m.in. lektyny) i aminokwasy (ergotioneina), lipidy (sterole, terpenoidy), związki fenolowe, błonnik oraz wiele innych.

Najliczniejszą grupą związków występujących w grzybach, wykazujących aktywność biologiczną są polisacharydy, a zaliczane do nich  $\beta$ -glukany są najbardziej znanymi i najbardziej wszechstronnymi metabolitami o szerokim spektrum aktywności. Związki te są heteroglukanami zawierającymi zarówno wiązania  $(1\rightarrow3)/(1\rightarrow4)\text{-}\beta$ , jak i  $(1\rightarrow3)/(1\rightarrow6)\text{-}\beta$  [Waszkiewicz-Robak i Kulik 2019, Maity i in. 2021]. Są one istotnym składnikiem ściany komórkowej grzybów, mogą stanowić do 60% wartości suchej masy, z czego nawet 90% przypada na  $\beta$ -(1,3)-D-glukan [Douwes 2005, Perczyńska i in. 2017, Sari i in. 2017]. Najwyższą zawartość tych polisacharydów stwierdzono w owocnikach azjatyckich grzybów leczniczych i jadalnych, jednak porównywalne wartości można również stwierdzić w owocnikach niektórych gatunków grzybów jadalnych występujących w Polsce, jak chociażby piaskowiec modrzak (*Gyroporus cyanescens*), maślak ziarnisty (*Suillus granulatus*) oraz maślak pstry (*Suillus variegatus*) [Mirończuk-Chodakowska i in. 2017]. Beta-glukany, w zależności od źródła pochodzenia, charakteryzują się zróżnicowaną masą cząsteczkową, stopniem polimeryzacji, rozpuszczalnością, strukturą i konformacją a tym samym zróżnicowanym działaniem biologicznym. Do najpopularniejszych tego typu związków zaliczyć można:

– lentinan, izolowany z twardziaka jadalnego (*Lentinus edodes*); wykazuje działanie przeciwnowotworowe, przeciwzapalne, przeciwbakteryjne, przeciwwirusowe, wzmacnia układ odpornościowy organizmu, obniża poziom cholesterolu we krwi, wspomaga funkcje wątroby; ze względu na ograniczone wchłanianie z przewodu pokarmowego stosowany jest dożylnie oraz dootrzewnowo [Golianek i Mazurkiewicz-Zapałowicz 2016, Muszyńska i in. 2017, Waszkiewicz-Robak i Kulik 2019, Antonelli i in. 2020];

– pleuran, izolowany z boczniaka ostrygowatego (*Pleurotus ostreatus*); wykazuje działanie przeciwnowotworowe, przeciwgrzybiczne, immunomodulacyjne, przeciwalergiczne, obniża stężenie lipidów we krwi i reguluje gospodarkę węglowodanową; hamuje adsorpcję, penetrację i rozprzestrzenianie się wirusa HSV-1; stosowany miejscowo w postaci maści w atopowym zapaleniu skóry działa przeciwzapalnie i przeciwiświądowo [Jesenak i in. 2014, Jesenak i in. 2016, Waszkiewicz-Robak i Kulik 2019, Urbancikova i in. 2020];

– schizofylian ( $\beta$ -glukan SPG/SCH, sonifilan, sizofiran czy sizofilan), izolowany z grzyba *Schizophyllum commune*; wykazuje działanie przeciwnowotworowe, po wstrzyknięciu bezpośrednio do masy guza hamuje jego rozrost, nasila odpowiedź immunologiczną, zwiększa ekspresję cytokin, zwiększa aktywność komórek NK (ang. natural killer); podawany może być także dożylnie i dootrzewnowo [Golianek i Mazurkiewicz-Zapałowicz 2016, Meng i in. 2016, Wasser 2017, Waszkiewicz-Robak i Kulik 2019];

– grifolan (maitake D-fraction), izolowany z żagwicy listkowatej (*Grifola frondosa*), posiada właściwości przeciwnowotworowe, immunomodulacyjne, zwiększa ekspresję cytokin, stosowany w profilaktyce chorób układu krążenia, wykazuje działanie przeciwnadciśnieniowe, przeciwwirusowe i antybakteryjne; co bardzo ważne – wykazuje wysoką aktywność przy podaniu doustnym [Meng i in. 2016, He i in. 2018, Waszkiewicz-Robak i Kulik 2019];

– krestin (PSK, proteoglukan), izolowany z grzybni wrośniaka różnobarwnego (*Trametes versicolor*), wykazuje działanie przeciwnowotworowe, zwiększa ekspresję cytokin; stymuluje makrofagi do walki z nowotworem, wykazuje aktywność antymikrobiologiczną przeciw *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes* i *Candida albicans*; podawany doustnie [Golianek i Mazurkiewicz-Zapałowicz 2016, Meng i in. 2016, Waszkiewicz-Robak i Kulik 2019].

Bioaktywne białka są ważną częścią funkcjonalnych składników grzybów. Do tej grupy związków zaliczane są lektyny – nieimmunologiczne białka lub glikoproteiny wiążące się specyficznie z węglowodanami znajdującymi się na powierzchni komórki. ABA (*Agaricus bisporus* agglutinin) to lektyna wyizolowana z pieczarki. Badania wykazały, że ABA zmniejsza adhezję międzykomórkową komórek raka jelita grubego i spowalnia ich proliferację. Efekt ten tłumaczy się wiązaniem lektyn do błony komórkowej komórek nowotworowych [Majewski i in. 2018]. W ciągu ostatnich kilku lat odkryto wiele lektyn grzybowych. Wykazują one wiele właściwości farmaceutycznych, właściwości immunomodulujące, przeciwnowotworowe, przeciwwirusowe, przeciwbakteryjne i przeciwgrzybicze. Niektóre z nich wykazują bardzo silne działanie antyproliferacyjne w stosunku do niektórych linii komórek nowotworowych [Xu i in. 2011, Singh i in. 2020]. Potencjalne znaczenie w badaniach nad rakiem mają też lektyny izolowane z innych gatunków grzybów jadalnych: *Boletus satanus*, *Flammulina velutipes*, *Ganoderma lucidum*, *Grifola frondosa*, *Tricholoma mongolicum* czy *Volvariella volvacea* [Singh i in. 2015].

Obecnie znanych i badanych jest szereg związków białkowych o interesujących właściwościach biologicznych, jak immunomodulujące białka grzybów (FIP), białka inaktywujące rybosomy (RIP), rybonukleazy, lakazy i inne wykazujące działanie przeciwnowotworowe, przeciwwirusowe, przeciwbakteryjne, przeciwutleniające i immunomodulujące [Xu i in. 2011].

Ergotioneina jest aminokwasem, pochodną histydyny zawierającą siarkę. Syntetyzowana jest wyłącznie przez bakterie i grzyby, skąd przenosi się w górę łańcucha pokarmowego do roślin i zwierząt – w tym ludzi [Halliwell i in. 2018]. Uważa się, że jej najlepszym dietetycznym źródłem są grzyby jadalne. W kapeluszach prawdziwka (*Boletus edulis*) stwierdzono obecność ergotioneiny w ilo-



ści przekraczającej 180 mg/100 g s. m. Jako dobre źródło tego związku uważa się także gatunki: *Agaricus bisporus*, *Lentinus edodes*, *Pleurotus ostreatus* i *Grifola frondosa* [Halliwell i in. 2018, Nachimuthu i in. 2019]. Badania wykazały wyższą koncentrację tego związku w kapeluszach niż w trzonach grzybów, czy też w grzybni. W przypadku pieczarki wyższą zawartością charakteryzowały się owocniki zebrane z III rzutu (trzeci termin zbioru), co tłumaczy się odpowiedzią na zwiększony stres oksydacyjny [Ghahremani-Majd i Dashti 2015, Kalaras i in. 2017]. Badania przeprowadzone przez Tsai i Chen [2019] dowiodły, że przechowywanie i przetwarzanie grzybów może nieznacznie zmienić zawartość ergotioneiny. Zaleca się wykorzystanie świeżego surowca (grzyby przechowywane maksymalnie do 3 dni) oraz krótkotrwałą obróbkę termiczną, aby w większym stopniu zachować poziom tego związku.

Ergotioneina ma silne właściwości przeciwutleniające i cytoprotekcyjne, istnieją dowody na to, że organizm może koncentrować ją w miejscach uszkodzenia tkanki. W niektórych chorobach obserwowano zmniejszone stężenie ergotioneiny we krwi i (lub) osoczu, co sugeruje, że niedobór może mieć znaczenie dla wystąpienia lub progresji choroby [Halliwell i in. 2018]. Głównym zadaniem biologicznym ergotioneiny jest ochrona komórek i tkanek przed działaniem toksycznych substancji utleniających i mutagennych, poprzez wychwytywanie nadtlenu wodoru, wolnych rodników oraz elektrofilnych cząsteczek mutagenów. Ergotioneina ma zdolność do chelatowania jonów miedzi i żelaza, może także minimalizować uszkodzenia spowodowane napromieniowaniem, niedożywieniem po transplantacji organów oraz udarach serca i mózgu [Luchter-Wasylewska 2003].

Sterole to substancje lipidowe, należące do triterpenów. Grzyby charakteryzują się wysokim poziomem ergosterolu, składnika błony komórkowej grzybów, który pod wpływem promieniowania UV jest przekształcany w witaminę D<sub>2</sub>. Witamina D jest witaminą rozpuszczalną w tłuszczach, występuje w dwóch głównych formach, a mianowicie D<sub>2</sub> i D<sub>3</sub>. Forma D<sub>3</sub> występuje głównie w produktach pochodzenia zwierzęcego, takich jak jaja, mięso i ryby, podczas gdy forma D<sub>2</sub> jest głównie obecna w owocnikach grzybów [Papoutsis i in. 2020]. Witamina D odgrywa istotną rolę w regulacji i utrzymaniu homeostazy wapnia. Niedobory witaminy D są również powiązane ze zwiększonym ryzykiem raka, nadciśnienia, chorób autoimmunologicznych i cukrzycy [Jäpelt i Jakobsen 2013].

Wyższe stężenie ergosterolu obserwuje się we wczesnych stadiach wzrostu grzyba, związek ten, w miarę dojrzewania, gromadzi się w większej ilości w kapeluszach, w mniejszym stopniu w trzonach grzybów [Shao i in. 2010]. Ergosterol wykazuje szereg korzystnych dla zdrowia właściwości, takich jak działanie przeciwhiperlipidemiczne (wpływa na obniżenie poziomu lipidów we krwi), przeciwzapalne, przeciwutleniające oraz hamujące rozwój grzybów i bakterii. Pozostałe sterole grzybowe to ergosta-7-enol, ergosta-5,7-dienol i ergosta-7,22-dienol [Cateni i in. 2021].

Przemiań ergosterolu w witaminę D<sub>2</sub> można osiągnąć poprzez zastosowanie sztucznego lub naturalnego promieniowania ultrafioletowego (UV). W badaniach Sławińskiej i innych [2017a], które obejmowały trzy gatunki grzybów

jadalnych (*Agaricus bisporus*, *Pleurotus ostreatus* i *Lentinus edodes*), analizowano wpływ promieniowania ultrafioletowego B (UVB) na syntezę witaminy D<sub>2</sub> i jej stabilność podczas przechowywania w warunkach chłodniczych. Napromieniane grzyby przechowywano w 4°C przez 10 dni. Uprawiane grzyby nietraktowane UVB były pozbawione witaminy D<sub>2</sub>. Po naświetlaniu UVB otrzymano grzyby z dużą ilością ergokalcyferolu, wynoszącą odpowiednio dla badanych gatunków 3,55; 58,96 oraz 29,46 µg/g suchej masy. Podczas przechowywania w warunkach chłodniczych dochodziło do zmian w zawartości ergokalcyferolu, których kierunek zależał od gatunku grzybów. W przypadku *P. ostreatus* i *L. edodes* zaobserwowano stopniowy spadek zawartości witaminy D<sub>2</sub>, natomiast w owocnikach pieczarki zawartość tego związku stopniowo wzrastała do szóstej doby prowadzonego doświadczenia.

Ważnym wtórnym metabolitem grzybów jest lowastatyna, poliketyd stosowany jako lek należący do grupy statyn, obniżający poziom cholesterolu. Mechanizm działania polega na hamowaniu reduktazy 3-hydroksy-3-metyloglutarylokoenzymu A (HMG-CoA), kluczowego enzymu w syntezie mewalonianu, bezpośredniego prekursora cholesterolu [Cateni i in. 2021]. Wykazano, że lowastatyna może wywierać także wielokierunkowy wpływ na takie choroby, jak osteoporoza, choroby neurodegeneracyjne, reumatoidalne zapalenie stawów, choroba niedokrwienna serca i niealkoholowe stłuszczenie wątroby. Lowastatyna wykazuje również właściwości przeciwnowotworowe, m.in. na skutek hamowania genów biorących udział w podziale komórek, zwiększając aktywność inhibitorów cyklu komórkowego i zmniejszając aktywność cyklin B i D1 oraz hamując czynniki przeciwapoptotyczne [Kała i in. 2020].

Owocniki grzybów jadalnych są cennym źródłem lowastatyny. Badania przeprowadzone przez Kała i in. [2020] wykazały, że spośród 4 gatunków grzybów jadalnych: *Agaricus bisporus*, *Cantharellus cibarius*, *Imleria badia* i *Lentinus edodes*, najwyższą zawartością lowastatyny charakteryzowały się owocniki *C. cibarius* (67,89 mg/100 g s.m.). Wysoką zawartość tego związku stwierdzono także w owocnikach bocznika (606,5 mg/kg s.m.) [Chen i in. 2012].

Eritadenina, wyizolowana z twardziaka jadalnego, ma również właściwość obniżania stężenia cholesterolu we krwi oraz wątrobie. Związek ten prawdopodobnie obniża wszystkie frakcje lipoprotein we krwi u ssaków. Doustne podawanie tej substancji okazało się skuteczne chociaż tylko 10% tego związku jest wchłaniane z przewodu pokarmowego. Dożylnie podanie eritadeniny jest nieskuteczne, ponieważ związek ten jest szybko usuwany z krwiobiegu i wydalany przez nerki [Guillamón i in. 2010, Muszyńska i in. 2017]. Eritadenina zmniejsza także zdolność produkcji homocysteiny, stanowiącej czynnik ryzyka chorób serca [Fukada i in. 2006].

Związki fenolowe są wtórnymi metabolitami posiadającymi pierścień aromatyczny z jedną lub więcej grupami hydroksylowymi. Główną cechą tej grupy związków jest ich aktywność przeciwutleniająca, działają one jako środki redukujące, zmiatacze wolnych rodników, wygaszacze tlenu singletowego lub chelatory jonów metali. Ze względu na te cechy związki fenolowe wykazują działanie ochronne w schorzeniach nowotworowych oraz w chorobach układu krążenia

[Khatua i in. 2013, Abdelshafy i in. 2021]. Związki fenolowe są najliczniejszymi przeciwutleniaczami w diecie człowieka. Dzielne spożycie przeciwutleniaczy wynosi około 1 g, a kwasy fenolowe stanowią około jednej trzeciej tej ilości i są one uważane za najcenniejsze przeciwutleniacze [Muszyńska i in. 2013].

Jak podają Kim i inni [2008], zawartość związków fenolowych ogółem w przebadanych 10 gatunkach grzybów jadalnych i leczniczych mieści się w granicach od 174 do 477  $\mu\text{g/g}$  próbki. Zawartość związków fenolowych i związana z tym aktywność przeciwutleniająca jest zależna od części morfologicznej owocników. Większą aktywność stwierdza się dla kapeluszy niż dla trzonów [Ferreira i in. 2007].

Za najpowszechniejsze związki fenolowe występujące w grzybach uważa się kwasy fenolowe. Zawartość kwasów fenolowych ogółem w grzybach jadalnych mieści się w granicach 4–80 mg/kg suchej masy [Kalač 2013]. Są one odpowiedzialne za działanie przeciwutleniające, przeciwzapalne, przeciwnowotworowe, przeciwhiperlglikemiczne, przeciwesteoporotyczne, przeciwtirozynazowe i przeciwdrobnoustrojowe [Abdelshafy i in. 2021]. W grzybach obecne są również flawonoidy w ilości 22–76  $\mu\text{g/g}$  próbki, a także lignany, garbniki i stylbeny [Kim i in. 2008, Ma i in., 2018].

Spośród kwasów hydroksybenzoesowych w grzybach najczęściej stwierdzano obecność kwasu p-hydroksybenzoesowego, protokatechowego, galusowego, gentyzynowego, wanilinowego, syringowego, a wśród pochodnych kwasu cynamonowego – p-kumarowego, kawowego i ferulowego [Kalač 2013]. Badania *in vitro* i *in vivo* wykazały, że występujące w grzybach kwasy p-hydroksybenzoesowy, galusowy i protokatechowy charakteryzują się działaniem przeciwutleniającym, przeciwbakteryjnym, przeciwwirusowym, przeciwgrzybiczym, przeciwzapalnym i stymulującym wydzielanie kwasów żołądkowych [Rodriguez Vaquero i in. 2007, Karaman i in. 2010]. Wykazano także, że kwasy fenolowe z *Inonotus hispidus* mogą chronić przed wirusami grypy typu A i B [Cheung 2010].

Palacios i inni [2011], badając ekstrakty z 8 gatunków grzybów jadalnych, wykazali, że związki fenolowe w nich zawarte działają silnie hamująco na procesy utleniania lipidów. Badane grzyby, w zależności od gatunku, zawierały 1–6 mg/g s. m. związków fenolowych. We wszystkich próbkach stwierdzono obecność kwasu homogentyzynowego, powszechnie występowały także kwas galusowy i chlorogenowy. Spośród flawonoidów stwierdzono obecność mirycetyny i katechiny. Między innymi z właściwości przeciwutleniających związków fenolowych wynika ich działanie neuroprotektyjne. Ze względu na takie działanie grzyby są postrzegane jako bardzo cenny surowiec do wytwarzania tzw. neuroprotektynnych mykofarmaceutyków i żywności funkcjonalnej, które mogłyby zapobiegać lub łagodzić przebieg chorób neurodegeneracyjnych [Hu i in. 2017, Badalyan i Rapior 2020].

Grzyby jadalne są naturalnie bogate w błonnik pokarmowy, jego zawartość mieści się w granicach 24,4–46,62% s.m. Ściana komórkowa grzybów składa się głównie z niestrawnych polisacharydów, a mianowicie chityny,  $\beta$ -glukanów i hemiceluloz (mannanów, ksylanów i galaktanów) [González i in. 2020]. Różne

frakcje błonnika grzybowego, tzn. błonnik rozpuszczalny (glukany i chitosany) oraz błonnik nierozpuszczalny (głównie chityna), wykazują szerokie działanie biologiczne. Przypisuje się im właściwości przeciwcukrzycowe, przeciwzapalne, przeciwutleniające, przeciwbakteryjne i przeciwwirusowe [Sas-Golak i in. 2011]. Jak donoszą Fernandes i inni [2015] oraz Cheung [2013], błonnik pokarmowy grzybów pomaga zapobiegać zaparciom, hemoroidom, chorobom okrężnicy, cukrzycy i chorobom sercowo-naczyniowym, poprawia pracę jelit oraz metabolizm insuliny i cholesterolu. Wzmacnia również układ odpornościowy i działa przeciwnowotworowo.

Chitynę i chitosany stosuje się do leczenia różnego typu otwartych ran, związki te pobudzają orientację włókien kolagenowych i komórek zrębowych, przyspieszając tym samym proces gojenia i minimalizując tworzenie się blizn. Dodatkowo działają przeciwbólowo i zabezpieczają ranę przed drobnoustrojami [Rajewska i Bałasińska 2004].

Liczne badania wykazały, że ekstrakty grzybowe bogate w błonnik wykazują właściwości prebiotyczne. Polisacharydy grzybowe są potencjalnym źródłem prebiotyków, ponieważ zawierają składniki odżywcze dla bakterii probiotycznych, takie jak chityna, hemicelulozy,  $\alpha$  i  $\beta$ -glukan, mannany, ksylany i galaktoza [Bhakta i Kumar 2013]. Ekstrakty z bocznika *Pleurotus ostreatus* i *Pleurotus eryngii* stymulowały wzrost bakterii probiotycznych – *Lactobacillus* ssp., *Bifidobacterium* ssp. oraz *Enterococcus faecium* [Synytsya i in. 2008]. W pracy Sawangwan i in. [2018] ekstrakty z 7 gatunków grzybów jadalnych jako podłoża dla *L. acidophilus* i *L. plantarum* analizowano dodatkowo pod kątem hamowania wzrostu patogenów (*Bacillus cereus*, *Escherichia coli*, *Samonella paratyphi* i *Staphylococcus aureus*). Wszystkie podłoża hodowlane zawierające ekstrakty z grzybów miały lepszą zdolność hamowania patogenów niż próbka kontrolna. Największe efekty zaobserwowano w przypadku ekstraktu z bocznika w stosunku do inhibicji wzrostu *S. paratyphi*.

## **Grzyby jako żywność funkcjonalna, fortyfikacja i wzbogacanie żywności**

Grzyby zawierają różnorodne składniki bioaktywne, które zapobiegają wielu chorobom lub je leczą. Ze względu na wysoki potencjał odżywczy i terapeutyczny grzyby mogą znaleźć różne zastosowania, mianowicie jako żywność funkcjonalna lub jako źródło nutraceutyków do utrzymania zdrowia i wysokiej jakości życia.

Uprawne grzyby jadalne w postaci nieprzetworzonej dostępne są przez cały rok, grzyby dziko rosnące jedynie w sezonie letnio-jesiennym. Grzyby, ze względu na dużą zawartość wody, białka i wysoką aktywność enzymatyczną, są produktem o niskiej trwałości [Golianek i Mazurkiewicz-Zapałowicz 2016], a przechowywane w niewłaściwych warunkach mogą stanowić źródło amin biogennych [Jabłońska-Ryś i in. 2020], dlatego też znaczna część zbiorów jest

przetwarzana. Główne kierunki przetwórstwa grzybów to suszenie, mrożenie i produkcja konserw (głównie marynat) [Sławińska i in. 2017b]. Produkowane są także ekstrakty i mączka grzybowa, które ze względu na walory smakowe i zapachowe, mogą stanowić dodatek do produktów spożywczych [Golianek i Mazurkiewicz-Zapałowicz 2016]. Grzyby mogą mieć także swoje zastosowanie jako dodatek do różnych produktów spożywczych, wzbogacając je nie tylko w charakterystyczne cechy organoleptyczne, ale przede wszystkim zwiększając ich wartość odżywczą, dietetyczną i prozdrowotną.

Stosowanie grzybów jadalnych odnotowano w wielu różnych produktach spożywczych, w tym w skrobiowych (makarony, pieczywo i ciastka), mięsnych (jako substytuty mięsa lub wypełniacze, w kielbasach, hamburgerach), mlecznych (sery), a nawet w napojach i zupach.

W dostępnych źródłach można znaleźć wiele badań naukowych poświęconych możliwości wzbogacania wyrobów piekarniczych proszkami grzybowymi. Produkty gotowe charakteryzowały się większą zawartością błonnika, białka i  $\beta$ -glukanów w porównaniu z próbami kontrolnymi, bez dodatku grzybowego [Nurhanan i Aishah 2012, Prophan i in. 2015, Gadallah i Ashoush 2016]. Ciekawą propozycją mogą być ciastka z dodatkiem suszu twardziaka jadalnego. Produkt ten charakteryzował się stosunkowo wysoką zawartością białka i błonnika pokarmowego, uzyskał też dobrą ocenę konsumentów. Dodatek suszonych grzybów wzbogacał ciastka w składniki mineralne, takie jak cynk, magnez, miedź, potas i żelazo [Reguła 2009].

Równie szeroko przebadane były możliwości wzbogacania proszkami grzybowymi makaronów. Dodatek „mąki” grzybowej poprawiał właściwości reologiczne ciasta, miał istotny wpływ na zwiększenie wartości odżywczej poprzez wzrost udziału protein w gotowych wyrobach oraz zwiększenie wartości biologicznej, głównie za sprawą obecności związków przeciwutleniających oraz  $\beta$ -glukanów [Kim i in. 2016, Lu i in. 2016, Lu i in. 2018].

Grzyby stosowane były również jako dodatek do sosów i keczupów w celu wzbogacenia produktu w białko, błonnik i składniki mineralne [Bhuiyan i Rana 2012, Kumar i Ray 2016].

Dodatek grzybów, których owocniki były naświetlane promieniowaniem UVB, może w istotny sposób wzbogacić fortyfikowaną żywność w witaminę D. Niedobory tej witaminy są często obserwowane w różnych grupach wiekowych populacji, w tym również u dzieci. Badania przeprowadzone przez Proserpio i in. [2019] nad wzbogacaniem produktów pełnoziarnistych w bogaty w witaminę D<sub>2</sub> proszek z boczniaka wykazały, że można opracować nowe, wartościowe produkty o wysokim stopniu akceptowalności przez dzieci. Badania nad degradacją witaminy D<sub>2</sub> w proszkach grzybowych wykazały, że suszenie jest dobrą metodą przetwarzania i utrwalania grzybów, pozwalającą na zachowanie w znacznym stopniu ich wysokich wartości biologicznych i umożliwiającą ich stosowanie jako wartościowego dodatku do żywności. Proszek z boczniaka przechowywany w temperaturze pokojowej przez okres 1,5 roku zawierał prawie 67% wyjściowej ilości witaminy D<sub>2</sub> [Sławińska i in. 2016].

Innym przykładem żywności funkcjonalnej jest piwo z ekstraktu lakownicy żółtawej (*Ganoderma lucidum*) o podwyższonych właściwościach biologicznych, bogate w aminokwasy, kwasy tłuszczowe, węglowodany i triterpeny. Produkt ten charakteryzował się bardzo dobrą jakością sensoryczną. Degustatorzy ocenili wzbogacone ekstraktem grzybowym piwo podobnie, a w przypadku niektórych wyróżników jakościowych nawet lepiej, niż produkowane komercyjnie piwo Pilsner [Leskosek-Cukalovic i in. 2010].

Na rynku obecne są kawy i inne napoje z dodatkiem grzybów leczniczych. Do najczęściej wykorzystywanych tu gatunków należą: *Ganoderma lucidum*, *Inonotus obliquus*, *Cordyceps sinensis*, *Hericum erinaceus*. Napoje takie wykazują właściwości pobudzające, dodają energii, optymalizują ciśnienie krwi, zapobiegają zgadze, wzmacniają wydolność i wytrzymałość organizmu [Jabłońska i in. 2019].

Do produkcji żywności wzbogacanej w grzyby stosowane mogą być najnowsze technologie. Keerthana i in. [2020] zastosowali technologię druku 3D w produkcji przekąsek wzbogacanych sproszkowanym suszem z pieczarki. Produkt charakteryzował się podwyższoną zawartością błonnika i dobrymi właściwościami sensorycznymi.

Ze względu na wzrost zainteresowań produkcją żywności bogatej w białko niezawierające obserwuje się również intensyfikację związanych z tym zagadnieniem badań naukowych. Nie bez znaczenia są tu aspekty odżywcze i prozdrowotne, względy środowiskowe, przekonania religijne, a także dobrostan zwierząt [González i in. 2020]. Coraz więcej uwagi poświęca się bogatym w białko zawierające wszystkie niezbędne aminokwasy, a także w witaminę D grzybom jako zamiennikom mięsa lub cennym dodatkom polepszającym jakość i trwałość mięsnych produktów spożywczych. Barros i in. [2011] wykazali, że wyciągi z *Boletus edulis* chronią hamburgery wołowe przed peroksydacją lipidów, a także zapewniają im większy potencjał antyoksydacyjny. Inne badania wykazały, że ekstrakt z *Boletus aureus* pomaga wydłużyć okres przydatności do spożycia mięsa, chroniąc je przed rozwojem bakterii [Stojković i in. 2015].

## Podsumowanie

Przytoczone przykłady badań i zastosowań ekstraktów roślinnych wskazują na wyraźnie zarysowany kierunek rozwoju technologii żywności. Naukowcy i producenci żywności dążą do połączenia współczesnych osiągnięć w produkcji żywności z wielowiekową wiedzą na temat roślin i grzybów w tworzeniu nowych, zdrowych, bezpiecznych i atrakcyjnych sensorycznie produktów, takich, jakich obecnie poszukują świadomi konsumenci żywności.

Duża różnorodność grzybów i produktów grzybowych oraz wzrastająca świadomość ich wartości odżywczej, prozdrowotnej, a nawet leczniczej powodują, że są one cenionym produktem już nie tylko w krajach azjatyckich, ale również w Europie.

Wiele przemawia za potrzebą zwiększenia udziału grzybów w diecie. Należy jednak pamiętać także o aspektach negatywnych, jak chociażby ciężkostrawność, zdolność do kumulowania metali ciężkich, czy też o potencjalnej obecności amin biogennych.

## Piśmiennictwo

- Abdelshafy A.M., Belwal T., Liang Z., Wang L., Li D., Luo Z., Li L., 2021. A comprehensive review on phenolic compounds from edible mushrooms: Occurrence, biological activity, application and future prospective. *Crit. Rev. Food. Sci. Nutr.*, <https://doi.org/10.1080/10408398.2021.1898335>
- Akata I., Ergonul B., Kalyoncu F., 2012. Chemical compositions and antioxidant activities of 16 wild edible mushroom species grown in Anatolia. *Int. J. Pharmacol.* 8(2), 134–138, <https://doi.org/10.3923/ijp.2012.134.138>
- Antonelli M., Donelli D., Firenzuoli F., 2020. Lentinan for integrative cancer treatment: An umbrella review. *Proceedings*, 83, 1, <https://doi.org/10.3390/IECBM2020-08733>
- Azzi A., Stocker A., 2000. Vitamin E: non-antioxidant roles. *Prog. Lipid. Res.* 39, 231–255, [https://doi.org/10.1016/s0163-7827\(00\)00006-0](https://doi.org/10.1016/s0163-7827(00)00006-0)
- Badalyan S., Rapior S., 2020. Agaricomycetes medicinal mushrooms with potential neuroprotective activity growing in Armenia. *Proceedings of the Yerevan State University, Chemistry and Biology*, 54, 196–203.
- Barros L., Baptista P., Correia D.M., Casa S., Oliveira B., Ferreira I.C.F.R., 2007. Fatty acid and sugar compositions, and nutritional value of five wild edible mushrooms from Northeast Portugal. *Food Chem.* 105, 140–145, <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.03.052>
- Barros L., Barreira J., Grangeia C., Batista C., Cadavez V.A.P., Ferreira I.C.F.R., 2011. Beef burger patties incorporated with *Boletus edulis* extracts: lipid peroxidation inhibition effects. *Eur. J. Lipid. Sci. Technol.*, 113, 737–743, <https://doi.org/10.1002/ejlt.201000478>
- Barros L., Venturini B.A., Baptista P., Estevinho L.M., Ferreira I.C.F.R., 2008. Chemical composition and biological properties of Portuguese wild mushrooms: A comprehensive study. *J. Agricul. Food Chem.* 56, 3856–3862, <https://doi.org/10.1021/jf8003114>
- Bartosz G., 2003. *Druga twarz tlenu*. PWN, Warszawa.
- Bauer-Petrovska B., 2001. Protein fractions in edible Macedonian mushrooms. *Eur. Food Res. Technol.*, 212, 469–472, <https://doi.org/10.1007/s002170000285>.
- Bernaś E., Jaworska G., 2010. Zawartość aminokwasów w mrożonkach i konserwach sterylizowanych z borowika szlachetnego (*Boletus edulis* (Bull. Fr.)). *Żywn. Nauk. Technol. J.* 6, 134–145.
- Bernaś E., Jaworska G., Lisiewska Z., 2006. Edible mushrooms as a source of valuable nutritive constituents. *Acta Sci. Pol. Technol. Aliment.* 5, 5–20.
- Bhakta M., Kumar P., 2013. Mushroom polysaccharides as a potential prebiotics. *Int. J. Health Sci. Res.* 3(8), 77–84.
- Bhuiyan M.H.R., Rana M.S., 2012. Ketchup development from fresh Mushroom. *Bangladesh Res. Pub. J.* 7, 182–188.
- Boa E., 2004. Wild edible fungi. A global overview of their use and importance to people. *Non-Wood Forest Products. Series No. 17*. Food and Agriculture Organization, Roma.
- Cateni F., Gargano M.L., Procida G., Venturella G., Cirlincione F., Ferraro V., 2021. Mycochemicals in wild and cultivated mushrooms: nutrition and health. *Phytochem Rev.* <https://doi.org/10.1007/s11101-021-09748-2>
- Chang S.T., Miles P.G., 2008. *Mushrooms: cultivation, nutritional value, medicinal effect, and environmental impact*, 2nd ed. CRC Press, Boca Raton.
- Chang S.T., Wasser S.P., 2012. The role of culinary-medicinal mushrooms on human welfare with a pyramid model for human health. *Int. J. Med. Mushr.* 14, 95–134, <https://doi.org/10.1615/IntJMedMushr.v14.i2.10>

- Chen S.Y., Ho K.J., Hsieh Y.J., Wang L.T., Mau J.L., 2012. Contents of lovastatin,  $\gamma$ -aminobutyric acid and ergothioneine in mushroom fruiting bodies and mycelia. *LWT Food Sci. Technol.* 47, 274–278, <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2012.01.019>
- Cheung P.C.K., 2010. The nutritional and health benefits of mushroom. *Nutr Bull.* 35, 292–299, <https://doi.org/10.1111/j.1467-3010.2010.01859.x>
- Cheung P.C.K., 2013. Mini-review on edible mushrooms as source of dietary fiber: Preparation and health benefits. *Food Sci. Hum. Wellness* 2(3–4), 162–166, <https://doi.org/10.1016/j.fshw.2013.08.001>
- Cvetanovic A., Zengin G., Zekovic Z., Švarc-Gajic J., Ražic S., Damjanovic A., Maškovic P., Mitic M., 2018. Comparative *in vitro* studies of the biological potential and chemical composition of stems, leaves and berries *Aronia melanocarpa*'s extracts obtained by subcritical water extraction. *Food Chem. Toxicol.* 121, 458–466, <https://doi.org/10.1016/j.fct.2018.09.045>
- Dadáková E., Pelikánová T., Kalač P., 2009. Content of biogenic amines and polyamines in some species of European wild-growing edible mushrooms. *Eur. Food Res. Technol.* 230, 163–171, <https://doi.org/10.1007/s00217-009-1148-3>
- Díez A.A., Alvarez A., 2001. Compositional and nutritional studies on two wild edible mushrooms from northwest Spain. *Food Chem.* 75, 417–422, [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(01\)00229-1](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(01)00229-1)
- Dimitrijevic M.V., Mitic V.D., Jovanovic O.P., Stankov Jovanovic V.P., Nikolic J.S., Petrovic G.M., Stojanovic G.S., 2018. Comparative study of fatty acids profile in eleven wild mushrooms of Boletacea and Russulaceae families. *Chem. Biodivers.* 15, e1700434, <https://doi.org/10.1002/cbdv.201700434>
- Douwes J., 2005. (1→3)-Beta-D-glucans and respiratory health: a review of the scientific evidence. *Indoor Air* 15, 160–169, <https://doi.org/10.1111/j.1600-0668.2005.00333.x>
- Dudek-Makuch M., Knoska K., Chanaj-Kaczmarek J., 2019. Naturalne przedłużanie trwałości produktów spożywczych. *Postępy Fitoterapii*, 20, 208–215.
- Duliński R., 2010. Biotechnologiczne metody produkcji witamin z wykorzystaniem mikroorganizmów. *Żywn. Nauka Technol. Jakość* 68, 5–19.
- EFSA, 2008. Safety of aluminium from dietary intake [1] – Scientific Opinion of the Panel on Food Additives, Flavourings, Processing Aids and Food Contact Materials (AFC).
- EFSA, 2017. ECDC/EFSA/EMA second joint report on the integrated analysis of the consumption of antimicrobial agents and occurrence of antimicrobial resistance in bacteria from humans and food-producing animals. *EFSA J.* <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2017.4872>
- Eitenmiller R.R., Ye L., Landen W.O., 2008. *Vitamin analysis for the health and food sciences*. 2nd ed. Taylor & Francis Group.
- Embuscado M.E., 2015. Spices and herbs: Natural sources of antioxidants – a mini review. *J. Funct. Foods*, 18, Part B, 811–819, <https://doi.org/10.1016/j.jff.2015.03.005>
- Ergönül P.G., Akata I., Kalyoncu F., Ergönül B., 2013. Fatty acid compositions of six wild edible mushroom species. *The Scientific World J.*, <https://doi.org/10.1155/2013/163964>
- Falandysz J., Jędrusiak A., Lipka K., Kannan K., Kawano M., Gučia M., Brzostowski A., Dadej M., 2004. Mercury in wild mushrooms and underlying soil substrate from Koszalin, North-central Poland. *Chemosphere*, 54, 461–466, [https://doi.org/10.1016/S0045-6535\(03\)00700-8](https://doi.org/10.1016/S0045-6535(03)00700-8)
- FAO, 2019. Top 10 country production of macrofungi and truffles 2019. [http://www.fao.org/faostat/en/#rankings/countries\\_by\\_commodity](http://www.fao.org/faostat/en/#rankings/countries_by_commodity) [dostęp: 4.3.2021].
- Feeney M.J., Miller A.M., Roupas P., 2014. Mushrooms – biologically distinct and nutritionally unique: Exploring a “Third Food Kingdom”. *Nutrition Today*, 49, 301–307, <http://doi.org/10.1097/NT.0000000000000063>
- Ferlemi A.V., Lamari F.N., 2016. Berry leaves: An alternative source of bioactive natural products of nutritional and medicinal value. *Antioxidants* 5, 17–37, <https://doi.org/10.3390/antiox5020017>.
- Fernandes A., Barreira J.C.M., Antonio A.L., Morales P., Fernández-Ruiz V., Martins A.M., Oliveirac B.P.P., Ferreira I.C.F.R., 2015. Exquisite wild mushrooms as a source of dietary fiber: Analysis in electron-beam irradiated samples. *LWT Food Sci. Technol.* 60, 855–859, <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2014.10.050>
- Ferrante C., Chiavaroli A., Angelini P., Venanzoni R., Flores G.A., Brunetti L., Petrucci M., Politi M., Menghini L., Leone S., Recinella L., Zengin G., Ak G., Mascio M.D., Bacchin F., Orlando G.,



2020. Phenolic Content and Antimicrobial and Anti-Inflammatory Effects of *Solidago virgaurea*, *Phyllanthus niruri*, *Epilobium angustifolium*, *Peumus boldus*, and *Ononis spinosa* Extracts, *Antibiotics*, 9, 783, <https://doi.org/10.3390/antibiotics9110783>
- Ferreira I.C., Baptista P., Vilas-Boas M., Barros L., 2007. Free-radical scavenging capacity and reducing power of wild edible mushrooms from northeast Portugal: Individual cap and stipe activity. *Food Chem.* 100, 1511–1516, <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.11.043>
- Ferysiuk K., Wójciak K., Materska M., Chilczuk B., Pabich M., 2020. Modification of lipid oxidation and antioxidant capacity in canned refrigerated pork with a nitrite content reduced by half and addition of sweet pepper extract. *LWT Food Sci. Technol.* 118, <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.108738>
- Filis K., Konaszewska W., 2007. *Podstawy żywienia człowieka*. WSIP, Warszawa.
- Frankel E.N., Kanner J., German J.B., Parks E., Kinsella J.E., 1993. Inhibition of oxidation of human low density lipoprotein by phenolic substances in red wine. *The Lancet* 341, 454–456.
- Fukada S.I., Setoue M., Morita T., Sugiyama K., 2006. Dietary eritadenine suppresses guanidinoacetic acid – induced hyperhomocysteinemia in rats. *J Nutr*, 136, 2797–2802, <https://doi.org/10.1093/jn/136.11.2797>.
- Gadallah M.G., Ashoush I.S., 2016. Value addition on nutritional and sensory properties of biscuit using desert truffle (*Terfezia claveryi*) powder. *Food Nutr. Sci.* 12, 1171–1181, <http://dx.doi.org/10.4236/fns.2016.712109>.
- Gai F., Gasco L., Ortoffi M., Gonzales-Rodriguez A., Parisi G., 2014. Effects of green tea natural extract on quality parameters and lipid oxidation during storage of tench (*Tinca tinca*) fillets. *J. Appl. Ichthyol.* 30, 64–71, <https://doi.org/10.1111/jai.12427>
- Ghahremani-Majd H., Dashti F., 2015. Chemical composition and antioxidant properties of cultivated button mushrooms (*Agaricus bisporus*). *Hort. Environ. Biotechnol.* 56, 376–382, <https://doi.org/10.1007/s13580-015-0124-z>.
- Gheribi E., 2011. Związki polifenolowe w owocach i warzywach. *Med. Rodzinna* 4, 111–115.
- Golianek A., Mazurkiewicz-Zapałowicz K., 2016. Grzyby w diecie człowieka – wartość odżywcza i prozdrowotna. *Kosmos* 65(4), 513–522.
- González A., Cruz M., Losoya C., Nobre C., Loredó A., Rodríguez R., Contreras J., Belmares R., 2020. Edible mushrooms as a novel protein source for functional foods. *Food Funct.* 11, 7400–7414, <https://doi.org/10.1039/d0fo01746a>.
- Grajek W., 2007. *Przeciwutleniające w żywności – aspekty zdrowotne, technologiczne, molekularne i analityczne*. WNT, Warszawa.
- Grzybowski A., Pietrzak K., 2013. Albert Szent-György 1893–1986 scientist who discovered vitamin C. *Clin. Dermatol.* 31(3), 327–331.
- Guillamón E., García-Lafuente A., Lozano M., Darrigo M., Rostagno M.A., Villares A., Martínez J.A., 2010. Edible mushrooms: Role in the prevention of cardiovascular diseases. *Fitoterapia* 81, 715–723, <https://doi.org/10.1016/j.fitote.2010.06.005>
- Häkkinen S.H., Heinonen M., Kärenlampi S.O., Mykkänen H.M., Ruuskanen J., Torronen A.R., 1999a. Screening of selected flavonoids and phenolic acids in 19 berries. *Food Res. Int.* 32, 345–353, [https://doi.org/10.1016/S0963-9969\(99\)00095-2](https://doi.org/10.1016/S0963-9969(99)00095-2)
- Häkkinen S.H., Kärenlampi S.O., Heinonen M., Mykkänen H.M., Torronen A.R., 1999b. Content of the flavonols quercetin, myricetin, and kaempferol in 25 edible berries. *J. Agric. Food Chem.* 47, 2274–2279, <https://doi.org/10.1021/jf9811065>.
- Halliwell B., Cheah I.K., Tang R.M., 2018. Ergothioneine—a diet-derived antioxidant with therapeutic potential. *FEBS letters* 592(20), 3357–3366, <https://doi.org/10.1002/1873-3468.13123>
- Harborne J.B., Williams Ch.A., 2000. Advances in flavonoid research since 1992. *Phytochemistry* 55, 481–504, [https://doi.org/10.1016/s0031-9422\(00\)00235-1](https://doi.org/10.1016/s0031-9422(00)00235-1)
- He Y., Li X., Hao C., Zeng P., Zhang M., Liu Y., Chang Y., Zhang L., 2018. *Grifola frondosa* polysaccharide: a review of antitumor and other biological activity studies in China. *Discov. Med.* 25(138), 159–176.
- Herbers K., 2003. Vitamin production in transgenic plants. *J. Plant Physiol.* 160, 821–829, <https://doi.org/10.1078/0176-1617-01024>.

- Hertog M.G.L., Hollman P.C.H., Venema D.P., 1992. Optimization of a quantitative HPLC determination of potentially anticarcinogenic flavonoids in vegetables and fruits. *J. Agric. Food Chem.* 40, 1591–1598, <https://doi.org/10.1021/jf00021a023>.
- Hollman P.C.H., Hertog M.G.L., Katan M.B., 1996. Analysis and health effects of flavonoids. *Food Chem.* 57, 43–46, [https://doi.org/10.1016/0308-8146\(96\)00065-9](https://doi.org/10.1016/0308-8146(96)00065-9).
- Hu Q., Wang D., Yu J., Ma G., Pei F., Yang W., 2017. Neuroprotective effects of six components from *Flammulina velutipes* on H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-induced oxidative damage in PC12 cells. *J. Funct. Foods.* 37, 586–593, <https://doi.org/10.1016/j.jff.2017.07.043>.
- Jabłońska E., Bładkowska K., Bronkowska M., 2019. Kawa z dodatkiem grzybów – nowe źródło związków bioaktywnych? W: K.L. Krzystyniak, J. Klonowska (red.), *Nowe trendy w dietetyce*. Wyd. Wyższej Szkoły Inżynierii i Zdrowia w Warszawie, Warszawa.
- Jabłońska-Ryś E., Sławińska A., Stachniuk A., Stadnik J., 2020. Determination of biogenic amines in processed and unprocessed mushrooms from the Polish market. *J. Food Comp. Anal.* 92, 103492, <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2020.103492>.
- Jäpelt R.B., Jakobsen J., 2013. Vitamin D in plants: A review of occurrence, analysis, and biosynthesis. *Front Plant Sci.* 4, 136–136, <https://doi.org/10.3389/fpls.2013.00136>
- Jesenak M., Hrubisko M., Majtan J., Rennerova Z., Banovcin P., 2014. Anti-allergic effect of pleuran ( $\beta$ -glucan from *Pleurotus ostreatus*) in children with recurrent respiratory tract infections. *Phytother. Res.* 28, 471–474, <https://doi.org/10.1002/ptr.5020>
- Jesenak M., Urbancek S., Majtan J., Banovcin P., Hercogova J., 2016.  $\beta$ -Glucan-based cream (containing pleuran isolated from *Pleurotus ostreatus*) in supportive treatment of mild-to-moderate atopic dermatitis. *J. Dermatol. Treat.* 27, 351–354, <https://doi.org/10.3109/09546634.2015.1117565>
- Kalač P., 2009. Chemical composition and nutritional value of European species of wild growing mushrooms: A review. *Food Chem.* 113, 9–16, <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.07.077>
- Kalač P., 2013. A review of chemical composition and nutritional value of wild-growing and cultivated mushrooms. *J. Sci. Food Agric.* 93, 209–218, <https://doi.org/10.1002/jsfa.5960>
- Kalač P., Svoboda L., 2000. A review of trace element concentrations in edible mushrooms. *Food Chem.* 69, 273–28, [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(99\)00264-2](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(99)00264-2).
- Kalaras M.D., Richie J.P., Calcagnotto A., Beelman R.B., 2017. Mushrooms: A rich source of the antioxidants ergothioneine and glutathione. *Food Chem.* 233, 429–433, <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.04.109>
- Kała K., Kryczyk-Poprawa A., Rzewińska A., Muszyńska B., 2020. Fruiting bodies of selected edible mushrooms as a potential source of lovastatin. *Eur. Food Res. Technol.* 246, 713–722, <https://doi.org/10.1007/s00217-020-03435-w>
- Karaman M., Jovin E., Malbasa R., Matavuly M., Popovic M., 2010. Medicinal and edible lignicolous fungi as natural sources of antioxidative and antibacterial agents. *Phytother Res.* 24, 1473–1481, <https://doi.org/10.1002/ptr.2969>
- Keerthana K., Anukiruthika T., Moses J.A., Anandharamkrishnan C., 2020. Development of fiber-enriched 3D printed snacks from alternative foods: A study on button mushroom. *J. Food Eng.* 287, 110116, <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2020.110116>
- Khatua S., Paul S., Acharya K., 2013. Mushroom as the potential source of new generation of antioxidant: a review. *Res. J. Pharm. Technol.* 6, 496–505
- Kim M.Y., Seguin P., Ahn J.K., Kim J.J., Chun S.C., Kim E.H., Seo S.H., Kang E.Y., Kim S.L., Park Y.J., Ro H.M., Chung I.M., 2008. Phenolic compound concentration and antioxidant activities of edible and medicinal mushrooms from Korea. *J. Agric. Food. Chem.* 56, 7265–7270, <https://doi.org/10.1021/jf8008553>.
- Kim S., Lee J. W., Heo Y., Moon B., 2016. Effect of *Pleurotus eryngii* mushroom  $\beta$ -glucan on quality characteristics of common wheat pasta. *J. Food Sci.* 81, C835–C840, <https://doi.org/10.1111/1750-3841.13249>.
- Kirk P.M., Cannon P.F., David J.C., Stalpers J.A., 2008. *Ainsworth & Brisby's dictionary of the fungi*, 10th edn. CAB International, Wallingford.
- Kozłowska M., Fabiszewska A., Gawinowska A., 2020. Ekstrakty roślinne w wyrobach ciastkarskich. *Przem. Spoż.*, 20–29, <https://doi.org/10.15199/65.2020.6.4>
- Kumar K., Ray A., 2016. Development and shelf-life evaluation of tomato-mushroom mixed ketchup. *J. Food Sci. Technol.* 53, 2236–2243, <https://doi.org/10.1007/s13197-016-2179-y>

- Kunachowicz H., Nadolna I., Iwanow K., 2012. Wartość odżywcza wybranych produktów spożywczych i typowych potraw. PWZL, Warszawa.
- Leskosek-Cukalovic I., Despotovic S., Lalic N., Niksic M., Nedovic V., Tesevic V., 2010. Ganoderma lucidum – medical mushroom as a raw material for beer with enhanced functional properties. Food Res. Int. 43, 2262–2269, <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2010.07.014>
- Levine M., Rumsey S.C., Daruwala R., Park J.B., Wang Y., 1999. Criteria and recommendations for vitamin C intake. Wyd. Jama, 281, 1415–23.
- Longvah T., Deosthale Y.G., 1998. Compositional and nutritional studies on edible wild mushroom from northeast India. Food Chem. 63, 331–334, [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(98\)00026-0](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(98)00026-0)
- Lu X., Brennan M.A., Serventi L., Liu J., Guan W., Brennan C.S., 2018. Addition of mushroom powder to pasta enhances the antioxidant content and modulates the predictive glycaemic response of pasta. Food Chem. 264, 199–209, <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.04.130>
- Lu X., Brennan M.A., Serventi L., Mason S., Brennan C.S., 2016. How the inclusion of mushroom powder can affect the physicochemical characteristics of pasta. Int. J. Food. Sci. Technol. 51, 2433–2439, <https://doi.org/10.1111/ijfs.13246>
- Luchter-Wasyłewska E., 2003. Ergotioneina: występowanie i właściwości biologiczne. W: L. Włodek (red.), Biotiole w warunkach fizjologicznych, patologicznych i w terapii. Wyd. UJ, Kraków, 269–282.
- Ma G., Yang W., Zhao L., Pei F., Fang D., Hu Q., 2018. A critical review on the health promoting effects of mushrooms nutraceuticals. Food Sci. Hum. Wellness 7, 125–133, <https://doi.org/10.1016/j.fshw.2018.05.002>
- Maity P., Sen I.K., Chakraborty I., Mondal S., Bar H., Bhanja S.K., Soumitra M., Maity G. N., 2021. Biologically active polysaccharide from edible mushrooms: A review. Int. J. Biol. Macromol. 172, 408–417, <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.01.081>
- Majewski J., Orylski M., Majewski M., Rasała J., 2018. Wpływ substancji zawartych w pieczarkach na organizm człowieka. Med. Rodz. 21, 151–155, <https://doi.org/10.25121/MR.2018.21.2.151>
- Mania M., Rebeniak M., Szywał T., Postupolski J., 2019. Glin w żywności – czy powinniśmy się go obawiać? Przem. Spoż. 73, 44–47.
- Manninen H., Rotola-Pukkila M., Aisala H., Hopia A., Laaksonen T., 2018. Free amino acids and 5'-nucleotides in Finnish forest mushrooms. Food Chem. 247, 23–28, <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.12.014>
- Manzi P., Aguzzi A., Pizzoferrato L., 2001. Nutritional value of mushrooms widely consumed in Italy. Food Chem. 73, 321–325, [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(00\)00304-6](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(00)00304-6)
- Martinello M., Mutinelli F., 2021. Antioxidant Activity in Bee Products: A Review. Antioxidants 10, 71, <https://doi.org/10.3390/antiox.2021.01.081>
- Mattila P., Salo-Väänänen P., Könkö K., Aro H., Jalava T., 2002. Basic composition and amino acid contents of mushrooms cultivated in Finland. J. Agric. Food Chem. 50, 6419–6422, <https://doi.org/10.1021/jf020608m>
- Medina-Juárez L.Á., Molina-Quijada D.M.A., Toro-Sanchez C.L.D., Gonzalez-Aguilar G.A., Gamez-Meza N., 2012. Antioxidant activity of peppers (*Capsicum annuum* L.) extracts and characterization of their phenolic constituents. Comunic. Rep. 37, 588–593.
- Meenu M., Xu B., 2019. Application of vibrational spectroscopy for classification, authentication and quality analysis of mushroom: A concise review. Food Chem. 289, 545–557, <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.03.09>
- Meng X., Liang H., Luo L., 2016. Antitumor polysaccharides from mushrooms: a review on the structural characteristics, antitumor mechanisms and immunomodulating activities. Carbohydr. Res. 424, 30–41, <https://doi.org/10.1016/j.carres.2016.02.008>
- Mirończuk-Chodakowska I., Witkowska A.M., Zujko M.E., Terlikowska K.M., 2017. Quantitative evaluation of 1,3–1,6-beta-D-glucan contents in wild-growing species of edible Polish mushrooms. Roczn. Panstw. Zakł. Hig. 68(3), 281–290.
- Mocan A., Fernandes Â., Barros L., Crişan G., Smiljković M., Soković M., Ferreira I.C.F.R., 2018. Chemical composition and bioactive properties of the wild mushroom: *Polyporus squamosus* (Huds.) Fr: a study with samples from Romania. Food Funct. 9, 160–170, <https://doi.org/10.1039/c7fo01514c>

- Munné-Bosch S., Falk J., 2004. New insights into the function of tocopherols in plants. *Planta* 218, 323–326.
- Muszyńska B., Pazdur P., Lazur J., Sułkowska-Ziaja K., 2017. *Lentinula edodes* (Shiitake)–biological activity. *Medicina Internacia Revuo – Intern. Med. Rev.* 28, 189–195.
- Muszyńska B., Sułkowska-Ziaja K., Ekiert H., 2013. Phenolic acids in selected edible basidiomycota species: *Armillaria mellea*, *Boletus badius*, *Boletus edulis*, *Cantharellus cibarius*, *Lactarius deliciosus* and *Pleurotus ostreatus*. *Acta Sci. Pol. Hortorum Cultus* 12, 107–116.
- Nachimuthu S., Kandasamy R., Ponnusamy R., Deruiter J., Dhanasekaran M., Thilagar S., 2019. L-Ergothioneine: a potential bioactive compound from edible mushrooms. W: D. Agrawal, M. Dhanasekaran (red.), *Medicinal Mushrooms*. Springer, Singapore, [https://doi.org/10.1007/978-981-13-6382-5\\_16](https://doi.org/10.1007/978-981-13-6382-5_16)
- Nath P., Bouzayen M., Pech J.C., Matto A.K., 2014. Fruit Ripening Physiology, Signalling and Genomics. *CABI*, 69(4), 330–338.
- Nogala-Kałużka M., Siger A., 2011. Tokochromanole – bioaktywne związki roślin oleistych. Od biosyntezy do biomarkerów. *Rośliny Oleiste – Oilseed Crops* 32, 9–28.
- Nour V., Trandafir I., Cosmulescu S., 2014. Antioxidant capacity, phenolic compounds and minerals content of blackcurrant (*Ribes nigrum* L.) leaves as influenced by harvesting date and extraction method. *Ind. Crops Prod.* 53, 133–139, <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2013.12.022>.
- Nurhanan A., Aishah M., 2012. Effect of partial replacement of wheat flour with oyster mushroom (*Pleurotus sajor-caju*) powder on nutritional composition and sensory properties of butter biscuit. *Sains Malaysiana*, 41, 1565–1570.
- Olatunji T.L., Afolayan A.J., 2018. The suitability of chili pepper (*Capsicum annum* L.) for alleviating human micronutrient dietary deficiencies: A review. *Food Sci. Nutr.* 6, 2239–2251, <https://doi.org/10.1002/fsn3.790>.
- Olivier J., Symington E.A., Jonker C.Z., Rampedi I.T., Van Eeden T.S., 2012. Comparison of the mineral composition of leaves and infusions of traditional and herbal teas. *S. Afr. J. Sci.*, 108, Art. #623.
- Ozcan T., Akpinar-Bayizit A., Yilmaz-Ersan L., Delikanli B., 2014. Phenolics in Human Health. *Int. J. Chem. Eng. Appl.* 5, 393–396, <https://doi.org/10.7763/IJCEA.2014.V5.416>
- Palacios I., Lozano M., Moro C., D'arrigo M., Rostagno M.A., Martínez J.A., García-Lafuente A., Guillamón E., Villares A., 2011. Antioxidant properties of phenolic compounds occurring in edible mushrooms. *Food Chem.* 128, 674–678, <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.03.085>
- Papoutsis K., Grasso S., Menon A., Brunton N.P., Lyng J.G., Jacquier J.C., Bhuyan D.J., 2020. Recovery of ergosterol and vitamin D<sub>2</sub> from mushroom waste – Potential valorization by food and pharmaceutical industries. *Trends Food Sci. Technol.* 99, 351–366, <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.03.005>
- Parus A., 2013. Antioxidant and pharmacological properties of phenolic acids. *Post. Fitoter.* 1, 48–53.
- Patel Y., Naraian R., Singh V.K., 2012. Medicinal properties of *Pleurotus* species (oyster mushroom): a review. *World J. Fungal Plant Biol.* 3(1), 1–12, <https://doi.org/10.5829/idosi.wjfpb.2012.3.1.303>
- Pavlovic A.N., Brancovic J.M., Veljkovic J.N., Mitic S.S., Tošic S.B., Kalicanin B.M., Kostic D.A., Đorđević M.S., Velimirovic D.S., 2015. Characterization of commercially available products of aronia according to their metal content. *Fruits* 70, 385–393, <https://doi.org/10.1051/fruits/2015038>
- Pellegrini N., Simonetti P., Gardana C., Brenne O., Brighenti F., Pietta P., 2000. Polyphenol content and total antioxidant activity of Vini Novelli (young red wines). *J. Agric. Food Chem.* 48, 732–735, <https://doi.org/10.1021/jf990251v>
- Perczyńska A., Marciniak-Lukasiak K., Żbikowska A., 2017. Rola β-glukanu w przeciwdziałaniu chorobom cywilizacyjnym. *Kosmos* 66, 379–388.
- Proadhan U.K., Linkon K.M.M. R., Al-Amin M.F., Alam M.J., 2015. Development and quality evaluation of mushroom (*Pleurotus sajor-caju*) enriched biscuits. *Emir. J. Food Agric.* 542–547, <https://doi.org/10.9755/EJFA.2015.04.082>
- Proserpio C., Lavelli V., Gallotti F., Laureati M., Pagliarini E., 2019. Effect of vitamin D<sub>2</sub> fortification using *Pleurotus ostreatus* in a whole-grain cereal product on child acceptability. *Nutrients* 11, 2441, <https://doi.org/10.3390/nu11102441>

- Rajewska J., Bałasińska B., 2004. Związki biologicznie aktywne zawarte w grzybach jadalnych i ich korzystny wpływ na zdrowie. *Post. Hig. Med. Dośw.* 58, 352–357.
- Reguła J., 2009. Wartość odżywcza i ocena organoleptyczna ciastek wzbogaconych w susz grzybowy shiitake *Lentinula edodes*. *Żywn. Nauka Technol. Jakość* 4, 79–85.
- Rice-Evans C.A., Miller N.J., Paganga G., 1996. Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids. *Free Radic. Biol. Med.* 20, 933–956, [https://doi.org/10.1016/0891-5849\(95\)02227-9](https://doi.org/10.1016/0891-5849(95)02227-9).
- Rodriguez Vaquero M.J., Alberto M.R., Manca de Nadra M.C., 2007. Influence of phenolic compounds from wines on the growth of *Listeria monocytogenes*. *Food Contr.* 18, 587–593, <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2006.02.005>.
- Royse D.J., Baars J., Tan Q., 2017. Current overview of mushroom production in the world. W: C.Z. Diego, A. Pardo-Giménez (red.), *Edible and Medicinal Mushrooms: Technology and Applications* (s. 5–13), John Wiley & Sons Ltd., Chichester, <https://doi.org/10.1002/9781119149446.ch2>
- Sadler M., 2003. Nutritional properties of edible fungi. *Nutr. Bull.* 28, 305–308, <https://doi.org/10.1046/j.1467-3010.2003.00354.x>.
- Samsudin N.I.P., Abdullah N., 2019. Edible mushrooms from Malaysia; a literature review on their nutritional and medicinal properties. *Int. Food Res. J.* 26, 11–31.
- Sari M., Prange A., Lelley J.I., Hambitzer R., 2017. Screening of beta-glucan contents in commercially cultivated and wild growing mushrooms. *Food Chem.* 216, 45–51, <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.08.010>.
- Sas-Golak I., Sobieralski K., Siwulski M., Lisiecka J., 2011. Skład, wartość odżywcza oraz właściwości zdrowotne grzybów pozyskiwanych ze stanowisk naturalnych. *Kosmos* 60, 483–490.
- Sawangwan T., Wansanit W., Pattani L., Noysang, C., 2018. Study of prebiotic properties from edible mushroom extraction. *Agric. Nat. Resour.* 52, 519–524, <https://doi.org/10.1016/j.anres.2018.11.020>.
- Shah M.A., Don Bosco S.J., Mir S.A., 2014. Plant extracts as natural antioxidants in meat and meat products. *Meat Sci.* 98, 21–33, <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2014.03.020>
- Shahidi F., Amibigaipalan P., 2015. Phenolics and polyphenolics in foods, beverages and spices: Antioxidant activity and health effects-A review. *J. Funct. Foods* 18, 820–897, <https://doi.org/10.1016/j.jff.2015.06.018>
- Shao S., Hernandez M., Kramer J. K., Rinker D.L., Tsao R., 2010. Ergosterol profiles, fatty acid composition, and antioxidant activities of button mushrooms as affected by tissue part and developmental stage. *J. Agric. Food Chem.* 58, 11616–11625, <https://doi.org/10.1021/jf102285b>
- Shikov A.N., Poltanov E.A., Dorman H.J.D., Makarov V.G., Tikhonov V.P., Hiltunen R., 2006. Chemical composition and *in vitro* antioxidant evaluation of commercial water-soluble willow herb (*Epilobium angustifolium* L.) extracts. *J. Agric. Food Chem.* 54, 3617–3624, <https://doi.org/10.1021/jf052606i>
- Sikorski Z.E. (red.), 2017. *Chemia żywności*, t. 1 i 2. PWN, Warszawa.
- Silva Ana P., Barros Ana I.R.N.A., Goncalves B., Nunes F.M., 2010. A fast, simple and reliable hydrophilic interaction liquid chromatography method for the determination of ascorbic and isoascorbic acids. *Anal. Bioanal. Chem.* 396, 1863–1864, <https://doi.org/10.1007/s00216-009-3414-4>
- Singh R.S., Walia A.K., Kennedy J.F., 2020. Mushroom lectins in biomedical research and development. *Int. J. Biol. Macromol.* 151, 1340–1350, <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.10.180>.
- Singh S.S., Wang H., Chan Y.S., Pan W., Dan X., Yin C.M., Akkouch O., Ng T.B., 2015. Lectins from edible mushrooms. *Molecules* 20, 446–469, <https://doi.org/10.3390/molecules20010446>
- Siwulski M., Jasińska A., Sobieralski K., Sas-Golak I., 2011. Comparison of chemical composition of fruiting bodies of some edible mushrooms cultivated on sawdust. *Ecolog. Chem. Eng. A* 18, 89–96.
- Siwulski M., Sobieralski K., Sas-Golak I., 2014. Wartość odżywcza i prozdrowotna grzybów. *Żywn. Nauka Technol. Jakość* 92, 16–28, <https://doi.org/10.15193/zntj/2014/92/016-028>
- Sławińska A., Fornal E., Radzki W., Jabłońska-Ryś E., Parfieniuk E., 2017a. Vitamin D2 stability during the refrigerated storage of ultraviolet B-treated cultivated culinary-medicinal mushrooms. *Int. J. Med. Mushr.* 19, 249–255, <https://doi.org/10.1615/IntJMedMushrooms.v19.i3.70>

- Sławińska A., Fornal E., Radzki W., Skrzypczak K., Zalewska-Korona M., Michalak-Majewska M., Parfieniuk E., Stachniuk A., 2016. Study on vitamin D<sub>2</sub> stability in dried mushrooms during drying and storage. *Food Chem.* 199, 203–209, <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.11.131>
- Sławińska A., Michalak-Majewska M., Jabłońska-Ryś E., Skrzypczak K., Radzki W., Teterycz D., Gustaw W., 2017b. Grzyby jadalne: wartość odżywcza, produkcja, przetwórstwo i wykorzystanie. TWN Libropolis, Lublin.
- Staszowska-Karkut M., Materska M., 2020. Phenolic Composition, Mineral Content, and Beneficial Bioactivities of Leaf Extracts from Black Currant (*Ribes nigrum* L.), Raspberry (*Rubus idaeus*), and Aronia (*Aronia melanocarpa*). *Nutrients* 12, 463, <https://doi.org/10.3390/nu12020463>
- Stern B.R., Solioz M., Krewski D., Aggett P., Aw T.C., Baker S., Crump K., Durson M., Haber L., Hertzberg R., 2007. Copper and human health: Biochemistry, genetics, and strategies for modelling dose-response relationships. *J. Toxicol. Environ. Health, Part B* 10, 157–222, <https://doi.org/10.1080/10937400600755911>.
- Stojković D.S., Reis F.S., Ćirić A., Barros L., Glamočlija J., Ferreira I.C.F.R., Soković M., 2015. *Boletus aereus* growing wild in Serbia: chemical profile, *in vitro* biological activities, inactivation and growth control of food-poisoning bacteria in meat. *Int J. Food. Sci. Technol.* 52, 7385–7392, <https://doi.org/10.1007/s13197-015-1853-9>
- Synytsya A., Mickova K., Synytsya A., Jablonsky I., Spevacek J., Erban V., Kovarikova E., Copikova J., 2008. Glucans from fruit bodies of cultivated mushroom *Pleurotus ostreatus* and *Pleurotus eryngii*, Structure and potential prebiotic activity. *Carbohydr. Polym.* 76, 548–556, <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2008.11.021>
- Szymańska R., Kruk J., 2007. Występowanie oraz funkcja tokochromanoli u roślin, zwierząt i u człowieka. *Post. Biochem.* 53, 174–181.
- Świąder K., Piotrowska A., Rachtan-Janicka J., Rembiałowska E., Kostyra E., Dybkowska E., Wilk S., 2017. Możliwość otrzymywania funkcjonalnych produktów z mięsa wieprzowego poprzez modyfikowanie technologii ich wytwarzania. *Post. Techniki Przetwórstwa Spoż.* 128–135.
- Teleszko M., Wojdyło A., 2015. Comparison of phenolic compounds and antioxidant potential between selected edible fruits and their leaves. *J. Funct. Foods* 14, 736–746, <https://doi.org/10.1016/j.jff.2015.02.041>
- Thakur M.P., Singh H.K., 2013. Mushrooms, their bioactive compounds and medicinal uses: A review. *Medicinal Plants – Intern. J. Phytomed. Related Industr.* 5, 1–20, <https://doi.org/10.5958/j.0975-6892.5.1.004>
- Thi N.D., Hwang E.S., 2014. Bioactive compound contents and antioxidant activity in Aronia (*Aronia melanocarpa*) leaves collected at different growth stages. *Prev. Nutr. Food Sci.* 19, 204–212, <https://doi.org/10.3746/pnf.2014.19.3.204>
- Tian Y., Puganen A., Alakomi H.L., Uusitupa A., Saarela M., Yang B., 2018. Antioxidative and antibacterial activities of aqueous ethanol extracts of berries, leaves, and branches of berry plants. *Food Res. Int.* 106, 291–303, <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.12.071>
- Tsai S.Y., Chen Z.Y., 2019. Influence of cold storage and processing of edible mushroom on ergothioneine concentration, inflammation, *Int. J. Food Eng.* 5, 159–163, <https://doi.org/10.18178/ijfe.5.3.159-163>
- Tseng Y.H., Mau J.L., 1999. Contents of sugars, free amino acids and free 5'-nucleotides in mushrooms, *Agaricus bisporus*, during post-harvest storage. *J. Sci. Food Agric.* 79, 1519–1523, [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-0010\(199908\)79:11%3C1519::AID-JSFA399%3E3.0.CO;2-M](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0010(199908)79:11%3C1519::AID-JSFA399%3E3.0.CO;2-M)
- Turlejska H., Kunachowicz H., Czarnowska-Misztal E., 2007. *Zasady Żywienia Człowieka*. WSIP, Warszawa, 48–62.
- Ulziijargal E., Mau J.L., 2011. Nutrient compositions of culinary-medicinal mushroom fruiting bodies and mycelia. *Int. J. Med. Mushr.* 13, 343–349, <https://doi.org/10.1615/IntJMedMushr.v13.i4.40>
- Urbancikova I., Hudackova D., Majtan J., Rennerova Z., Banovcin P., Jesenak M., 2020. Efficacy of pleuran (β-glucan from *Pleurotus ostreatus*) in the management of herpes simplex virus type 1 infection. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, Article ID 8562309, <https://doi.org/10.1155/2020/8562309>

- Valverde M.E., Hernández-Pérez T., Paredes-López O., 2015. Edible mushrooms: improving human health and promoting quality life. *Inter. J. Microbiol.* Article ID 376387, <https://doi.org/10.1155/2015/376387>
- Velderrain-Rodríguez G.R., Palafox-Carlos H., Wall-Medrano A., Ayala-Zavala J.F., Chen C.O., Robles-Sánchez M., Astiazaran-García H., Alvarez-Parrilla E., González-Aguilar G.A., 2014. Phenolic compounds: Their journey after intake. *Food Funct.* 5, 189–197, <https://doi.org/10.1039/c3fo60361j>.
- Veljkovic B., Đorđević N., Dolićanin Z., Ličina B., Topuzovic M., Stankovic M., Zlatić N., Dajić-Stevanovic Z., 2019. Antioxidant and anticancer properties of leaf and fruit extracts of the wild raspberry (*Rubus idaeus* L.). *Not. Bot. Hort. Agrobot.* 47, 359–367, <https://doi.org/10.15835/nbha47111274>
- Venturini M.E., Reyes J.E., Rivera C.S., Oria R., Blanco D., 2011. Microbiological quality and safety of fresh cultivated and wild mushrooms commercialized in Spain. *Food Microbiol.* 28, 1492–1498. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2011.08.007>
- Vetter J., Rimóczi I., 1993. Crude, digestible and indigestible protein in fruiting bodies of *Pleurotus ostreatus*. *Z. Lebens. Unters. Forsch.* 197, 427–428.
- Wani B.A., Bodha R.H., Wani A.H., 2010. Nutritional and medicinal importance of mushrooms. *J. Med. Plant Res.* 24, 2598–2604, <https://doi.org/10.5897/JMPR09.565>.
- Wasser S.P., 2017. Medicinal mushrooms in human clinical studies. Part I. Anticancer, oncoimmunological, and immunomodulatory activities: a review. *Int. J. Med. Mushr.* 19, 279–317, <https://doi.org/10.1615/IntJMedMushrooms.v19.i4.10>
- Waszkiewicz-Robak B., Kulik K., 2019. Pochodzenie i właściwości prozdrowotne beta glukanów. *Post. Techniki Przetw. Spoż.* 2, 115–125.
- Xu X., Yan H., Chen J., Zhang X., 2011. Bioactive proteins from mushrooms. *Biotechnol. Adv.* 29(6), 667–674, <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2011.05.003>.
- Zhang Y., Venkatasamy C., Pan Z., Wang W., 2013. Recent developments on umami ingredients of edible mushrooms – A review. *Trends Food Sci. Technol.* 33, 78–92, <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2013.08.002>.





## ROZDZIAŁ 7

Klaudia Kowalik, Iwona Niedźwiedź,  
Adam Waško, Magdalena Polak-Berecka

# Modele *in vitro* w badaniach nad biodostępnością składników odżywczych

## Wstęp

Obecnie wśród konsumentów obserwuje się coraz większą troskę o zdrowie, która przejawia się m.in. we wzroście spożycia żywności pochodzenia roślinnego, bogatej w dobroczynne dla zdrowia fitoskładniki, takie jak polifenole, karotenoidy, witaminy, wielonienasycone kwasy tłuszczowe, białka i peptydy, oligosacharydy i związki mineralne [Thakur i in. 2020]. Fakt ten tłumaczy również dużą popularność produktów spożywczych opartych na składnikach funkcjonalnych. Obserwowany w ostatnich latach wzrost częstotliwości występowania chorób związanych z rozwojem cywilizacyjnym społeczeństw przyczynił się do opracowania metod wspomagania prawidłowego funkcjonowania metabolizmu człowieka, które są akceptowalne przez konsumentów, łatwo dostępne oraz charakteryzują się relatywnie niskimi kosztami wytwarzania. Do metod tych należy fortyfikacja żywności, czyli wzbogacanie produktu spożywczego w dodatkowy składnik lub składniki biologicznie aktywne w celu zapewnienia organizmowi dodatkowych korzyści prozdrowotnych innych niż wynikające z jego podstawowego składu. Związki bioaktywne pochodzenia roślinnego charakteryzują się bezpieczeństwem stosowania w żywności oraz wielokierunkowym działaniem prozdrowotnym, dlatego też wykazują potencjał do wykorzystania ich jako naturalnych substancji wzbogacających. Poza działaniem przeciwzapalnym, immunomodulacyjnym, przeciwbakteryjnym i przeciwwirusowym szczególną rolę przypisuje się ich aktywności antyoksydacyjnej. Roślinne związki fenolowe jako naturalne antyoksydanty wspomagają ochronę organizmu przed szkodliwym działaniem wolnych rodników [Kaulmann i in. 2016]. Uszkodzenia ważnych struktur komórek człowieka (białek, lipidów, kwasów nukleinowych, węglowodanów) spowodowane działaniem wolnych rodników uważane są za jedną z głównych przyczyn występowania chorób cywilizacyjnych, takich jak choroby układu krążenia, nowotwory, cukrzyca oraz choroby neurodegeneracyjne. Żywność, która wykazuje udokumentowany, pozytywny wpływ na organizm człowieka ponad ten, który wynika z obecności w niej niezbędnych składników odżywczych, nosi nazwę żywności funkcjonalnej [Świdorski 2018].

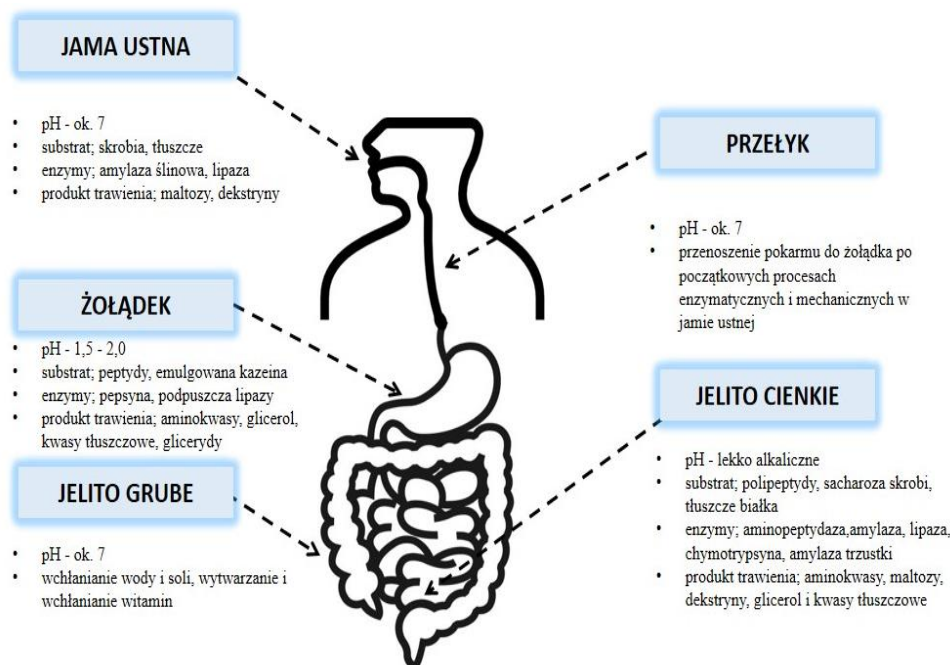
Podstawowym warunkiem efektywnej fortyfikacji żywności i spełnienia właściwej roli żywności funkcjonalnej w organizmie człowieka, rozumianej jako zdolność produktu do wywołania pożądaných zmian w organizmie, jest bioprzyswajalność składników żywności. Bioprzyswajalność (ang. bioavailability) definiuje się jako ilość substancji wprowadzonej do organizmu z pożywieniem, która jest uwolniona z pokarmu w procesie trawienia i może zostać wchłonięta [Wood 2005]. Bioprzyswajalność składników z żywności jest podstawowym warunkiem efektywności żywieniowej i obejmuje takie procesy jak: trawienie w przewodzie pokarmowym, wchłanianie, metabolizm, dystrybucję w tkankach i bioaktywność. Z żywieniowego punktu widzenia bioprzyswajalność odnosi się do tej frakcji składników odżywczych, które są magazynowane lub wykorzystywane w procesach fizjologicznych. W związku z tym bioprzyswajalność określa tę część spożytych składników odżywczych, która dociera do krążenia ogólnoustrojowego i ostatecznie zostaje wykorzystana przez organizm [Galanakis 2017]. Na bioprzyswajalność fitoskładników mają wpływ m.in. czynniki związane z technologią wytwarzania produktów spożywczych, ich składem oraz wzajemnym oddziaływaniem składników żywności. Zanim fitoskładniki zostaną przyswojone, muszą zostać uwolnione z matrycy pokarmowej i odpowiednio zmodyfikowane w przewodzie pokarmowym. Zatem termin bioprzyswajalność obejmuje pojęcie biodostępności składników odżywczych oraz ich bioaktywnego oddziaływania na organizm. Efektywność działania składników żywności zależy w dużym stopniu od ich biodostępności. Badania nad potencjalnym prozdrowotnym działaniem składników zawartych w żywności zawsze muszą być poprzedzone analizą wpływu procesu trawienia na ich stabilność w przewodzie pokarmowym. Biodostępność (ang. bioaccessibility) definiuje się jako ilość związku, która jest uwalniana z matrycy pokarmowej podczas trawienia i jest dostępna do wchłonięcia. Termin ten obejmuje przemiany składników żywności w procesie trawienia pokarmu w materiał gotowy do przyswojenia przez organizm oraz wchłanianie i asymilację do komórek nabłonka jelit. W warunkach laboratoryjnych biodostępność jest oceniana za pomocą metody trawienia *in vitro* w sztucznym przewodzie pokarmowym symulującym proces trawienia w żołądku i jelicie cienkim oraz poprzez analizę transportu transnabłonkowego w układzie modelowym kultur komórkowych nabłonka jelitowego [Carbonell-Capella i in. 2014].

W niniejszym rozdziale przedstawiono różne metody wykorzystywane w ocenie biodostępności składników żywności ze szczególnym uwzględnieniem związków bioaktywnych.

### **Trawienie w układzie pokarmowym *in vitro***

Procesy trawienne są nieodłącznym elementem życia człowieka wpływającym na jego dobre samopoczucie i zdrowie. Dostarczenie organizmowi substancji odżywczych z pożywienia jest możliwe dzięki trawieniu, które odbywa się w układzie pokarmowym [Wojtunik-Kulesza i in. 2020]. Rozpoczynając od

jamy ustnej, dalej przez przełyk, żołądek, jelito cienkie i grube, żywność poddawana jest przemianom mechanicznym i chemicznym, w następstwie których możliwe jest wykorzystanie jej składników do wzrostu komórek organizmu [Dupont i in. 2019]. Poza wymienionymi głównymi narządami układu pokarmowego, nieodzowne są również gruczoły ślinowe, wątroba, trzustka i pęcherzyk żółciowy [Lucas-Gonzalez i in. 2018]. Na każdym etapie trawienia i w poszczególnych fragmentach układu pokarmowego, w zależności od matrycy żywności, muszą być zapewnione odpowiednie warunki umożliwiające przemiany chemiczne i enzymatyczne pokarmu (pH, obecność enzymów trawiennych czy mikroflory) (ryc. 1) [Wojtunik-Kulesza i in. 2020].



Ryc. 1. Parametry procesu trawienia w przewodzie pokarmowym człowieka. Na podstawie: Wojtunik-Kulesza i in. [2020]

Procesy trawienne rozpoczynają się od jamy ustnej, gdzie żywność podlega licznym procesom chemicznym, biochemicznym i mechanicznym prowadzącym do jej wstępnej modyfikacji. Podczas tego etapu składniki odżywcze matrycy podlegają działaniu różnych enzymów trawiennych (m.in. amylazy), wchodzą w interakcje ze związkami zawartymi w ślinie (np. mucyną) czy ulegają rozdrobnieniu [McClements i Li 2010]. Rozdrobnienie pokarmu w jamie ustnej na skutek żucia ma istotne znaczenie, ponieważ przyczynia się do ułatwienia procesów trawiennych w kolejnych odcinkach przewodu pokarmowego.

Kolejny etap trawienia obejmuje przemiany związków, jakie następują w żołądku i zawartym w nim soku żołądkowym. Sok żołądkowy (pH  $1,2 \pm 0,3$ ) jest mieszaniną kwasu solnego, enzymów (min. pepsynogenu czy lipazy), elektrolitów, wody i innych substancji nieorganicznych i organicznych. Obecność w soku żołądkowym HCl wpływa na denaturację białek i aktywację pepsyny [Wojtunik-Kulesza i in. 2020]. Natomiast ruchy perystaltyczne tego narządu powodują zmniejszanie wielkości dostarczanego pokarmu. Obecna w żołądku treść pokarmowa wpływa również na zmiany kwasowości środowiska żołądka. Niższe pH odnotowywane jest na czczo (1,3–2,5), z kolei spożycie pokarmu powoduje jego podwyższenie do ok. 4,5 [Blanquet-Diot i in. 2009]. Czas zalegania miazgi pokarmowej w żołądku jest różny i zależy od rodzaju matrycy żywnościowej.

Następnie trawienie kontynuowane jest w pierwszym odcinku jelita cienkiego, gdzie w dwunastnicy żywność jest neutralizowana wodorowęglanem wapnia, a jej pH wzrasta do ok. 7. Jelito cienkie składa się z trzech odcinków: dwunastnicy, jelita czczego i jelita krętego, a jego budowa przystosowana jest do wchłaniania strawionej żywności (duża powierzchnia wewnętrzna) [Li i in. 2020]. W dwunastnicy zachodzi większość procesów enzymatycznych powodujących rozkład białek, tłuszczu i węglowodanów. Enzymy trawienne trzustki i enzymy wytwarzane przez wewnętrzną ścianę jelita cienkiego (proteazy, amylazy, lipazy) wydzielane są przez 3–4 godziny [Dima i in. 2020, Wojtunik-Kulesza i in. 2020]. Żółć produkowana przez wątrobę jest niezbędna do trawienia lipidów, ponieważ emulguje tłuszcze, ułatwiając tym samym ich rozkład przez lipazę trzustkową. Na skutek aktywności enzymatycznej, w jelicie cienkim białka trawione są do tripeptydów, dipeptydów i aminokwasów, węglowodany do monosacharydów, a tłuszcze do wolnych kwasów tłuszczowych i 2-monoglicerydów. Po hydrolizie substancji organicznych, absorpcja małych cząsteczek może następować biernie, np. poprzez dyfuzję, lub aktywnie przez różne systemy transportowe w ścianie jelita [Shani-Levi i in. 2017].

Ostatnim odcinkiem przewodu pokarmowego jest jelito grube, którego funkcją jest wchłanianie wody oraz elektrolitów, formowanie i wydalanie kału, ale także utrzymywanie wzrostu mikroflory [Neumann i in. 2006].

Z trawionej żywności, oprócz podstawowych składników odżywczych, takich jak peptydy, węglowodany i lipidy, które stanowią źródło energii dla komórek, dostarczane są organizmowi inne związki o różnej aktywności biologicznej, np. polifenole czy witaminy. W ostatnich latach przeprowadzono wiele badań nad związkami bioaktywnymi i ich potencjalnymi korzyściami zdrowotnymi. Niemniej jednak należy pamiętać, że właściwości bioaktywne fitoskładników, takich jak witaminy, polifenole czy błonnik pokarmowy, określane są przez ich biodostępność [Dima i in. 2020]. Dlatego też obserwuje się duże zainteresowanie modelami trawienia *in vitro*, które pozwalają określić zbliżoną przyswajalność tych substancji przez organizm człowieka. Duża część dostępnych badań opiera się na trawieniu żywności pochodzenia roślinnego: owoców i warzyw, która jest dobrym źródłem związków polifenolowych oraz witamin. Lucas-Gonzales i in. [2016] w swoich badaniach ocenili stabilność profilu związków

polifenolowych oraz zmiany potencjału antyoksydacyjnego jagód maqui podczas trawienia *in vitro*. Naukowcy odnotowali uwalnianie tych substancji w początkowych fazach trawienia w przewodzie pokarmowym, gdzie mogłyby działać antyoksydacyjnie. Jednakże stabilność polifenoli, głównie antocyjanów, gwałtownie spadała w ostatniej fazie trawienia, co spowodowało zmniejszenie ich biodostępności [Lucas-Gonzales i in. 2016]. Z kolei Henning i in. [2014] ocenili wpływ trawienia *in vitro* na aktywność antyoksydacyjną dostępnych na rynku suplementów diety bogatych w związki polifenolowe, np. ekstraktów z jagód goji, zielonej herbaty czy pestek winogron. Autorzy w niektórych próbkach odnotowali nawet 50% wzrost aktywności przeciwutleniającej w porównaniu z próbkami niestrawionymi [Henning i in. 2014].

W celu ułatwienia projektowania nowych produktów spożywczych o właściwościach prozdrowotnych opracowano w 1990 r. pierwszy model trawienia *in vitro*. Stosowanie modeli *in vitro* w badaniach żywności umożliwia przeprowadzenie relatywnie szybkich analiz o niższych kosztach, a także większej powtarzalności (kontrolowane warunki pH, stężenia soli czy enzymów) niż w przypadku badań *in vivo* [Brodkorb i in. 2019, Li i in. 2020]. Dostępne dane literaturowe wskazują na dużą różnorodność stosowanych modeli oraz obrazują wysiłki naukowców w zaprojektowaniu trawienia *in vitro* w taki sposób, by jak najlepiej odwzorował warunki panujące w organizmie. Zaproponowane modele różnią się między sobą liczbą i rodzajem etapów objętych procesem trawienia, składem wykorzystywanych płynów (enzymy, sole) oraz zastosowaniem sił mechanicznych. W zależności od przygotowanego układu doświadczalnego można wyróżnić systemy statyczne i dynamiczne [Neumann i in. 2006].

Styczne modele trawienia *in vitro* charakteryzują się zarówno prostą konstrukcją, jak i obsługą. Dają możliwość ciągłego monitorowania procesów fizykochemicznych zachodzących podczas trawienia [Muttakin i in. 2019, Li i in. 2020]. Modele te pozwalają na odtwarzanie trawienia jednoetapowego bądź trawienia wieloetapowego. Jednakże naukowcy zwracają uwagę na zmiany właściwości żywności, które zachodzą podczas trawienia w jamie ustnej i żołądka na skutek mechanicznego siekania, działania mucyny, przejścia od neutralnego pH w jamie ustnej do silnie kwaśnego pH w żołądka, czy działania enzymów amylolitycznych w jamie ustnej i enzymów proteolitycznych w żołądka. Wszystko to wpływa na stan nutraceutyków, które docierają do jelita cienkiego [Winuprasith i in. 2018]. Qin i in. [2017] badali wpływ błonnika pokarmowego na lipidy za pomocą dwóch statycznych modeli trawienia *in vitro*: jednostopniowego w jelicie cienkim oraz wielostopniowego w jamie ustnej, żołądka i jelicie cienkim. Wyniki wykazały, że współczynnik trawienia lipidów różnił się istotnie pomiędzy zastosowanymi modelami. W systemie jednostopniowym ilość wolnych kwasów tłuszczowych różniła się między sobą w zależności od zastosowanego błonnika pokarmowego. Natomiast w systemie wieloetapowym na ilość kwasów tłuszczowych nie wpływał rodzaj wykorzystanego błonnika, a szybkość uwalniania tych związków w fazie jelitowej była wyższa niż w modelu jednostopniowym. Podkreśla to znaczenie etapu trawienia wstępnego w jamie ustnej i żołądka na efektywny rozkład lipidów [Qin i in. 2017]. Pomimo

łatwości w projektowaniu, systemy statyczne posiadają pewne wady. Nie umożliwiają one bowiem odwzorowania sił mechanicznych, jakie zachodzą podczas trawienia *in vivo*, co ogranicza dokładność oceny biodostępności składników odżywczych. Dlatego też coraz większe zainteresowanie zyskują modele dynamiczne.

Dynamiczne modele trawienia *in vitro* mają za zadanie jak najdokładniejsze odwzorowanie warunków fizjologicznych układu pokarmowego. Modele te umożliwiają symulację dynamicznych aspektów trawienia, takich jak ruchy perystaltyczne i transport trawionej żywności, wydzielanie płynów trawiennych, zapewnienie zmiennego stężenia enzymów oraz odpowiedniej kwasowości środowiska (ciągłe monitorowanie pH) [Dupont i in. 2019, Muttakin i in. 2019, Li i in. 2020]. Przykładami modeli dynamicznych są TIM-1 (ang. TNO Gastro-Intestinal Model), ESIN (ang. Engineered Stomach and Small Intestinal System), Simgi® (ang. Dynamic Gastrointestinal Simulator) oraz SHIME® (ang. Simulator of Human Intestinal Microbial Ecosystem) [Chacón-Ordóñez i in. 2019, Dupont i in. 2019]. Przykładowo, model TIM-1 jest wieloelementowym systemem odwzorowującym przewód pokarmowy człowieka. Jego konstrukcja obejmuje kilka komór, które pełnią rolę poszczególnych narządów (żołądka, dwunastnicy, jelita czczego oraz jelita krętego). Przepływ trawionej próbki pomiędzy poszczególnymi etapami trawienia zapewniany jest za pomocą pomp perystaltycznych. Dodatkowo komory mają elastyczne ściany, na które wywierane jest zmienne ciśnienie powodujące wymieszanie zawartości pojemników. Warunki trawienia *in vivo* symulowane są poprzez kontrole takich parametrów jak: czas trwania poszczególnych etapów, absorpcję wody i metabolitów, szybkość przepływu treści pokarmowej, regulację pH oraz wydzielania płynów trawiennych (enzymy, żółć). Trawienie *in vitro* można zaprojektować w taki sposób, by odwzorowywało warunki panujące w przewodzie pokarmowym u ludzi w każdym przedziale wiekowym (wiek niemowlęcy, dorośli, osoby starsze). Model ten znalazł zastosowanie zarówno w badaniu biodostępności żywności, jak i w badaniu leków czy pasz [Wiater i in. 2020].

Niezależnie od tego, czy w badaniach biodostępności wykorzystywane są statyczne czy dynamiczne modele sztucznego przewodu pokarmowego, konieczne jest zapewnienie warunków imitujących trawienie w przewodzie pokarmowym człowieka. Dlatego też w celu odwzorowania warunków, jakie zachodzą podczas wstępnego trawienia w jamie ustnej, dodawana jest alfa-amylaza. Etap ten zwykle projektowany jest dla produktów bogatych w węglowodany i przeprowadzany jest w temperaturze 37°C przez ok. 2 min w środowisku obojętnym (pH 7) [Mulet-Cabero i in. 2020]. W przypadku gdy stosowane systemy pomijają fazę trawienia w jamie ustnej, produkty stałe należy wcześniej zhomogenizować [Neumann i in. 2006]. Trawienie w żołądku odbywa się poprzez dodanie do odpowiednio przygotowanej matrycy żywnościowej enzymu – pepsyny [Wojtunik-Kulesza i in. 2020]. Minimalna ilość enzymu umożliwiająca strawienie białka wynosi ok. 4000–5000 IU [Neumann i in. 2006]. Pomimo iż w naturalnych warunkach trawienia w przewodzie pokarmowym aktywność wykazują również enzymy trawiące tłuszcze (lipazy) to większość modeli

*in vitro* nie zakłada ich dodatku. Modele statyczne żołądkowego etapu trawienia *in vitro* najczęściej przeprowadzane są w środowisku o pH ok. 2,5, natomiast w modelach dynamicznych najczęściej uwzględniana jest zmiana kwasowości. Czas trawienia pokarmu w żołądku uzależniony jest od rodzaju treści pokarmowej, jednakże większość modeli zakłada, że etap ten trwa ok. 2 godz. i prowadzony jest w temperaturze 37°C [Seraglio i in. 2021]. Warunki trawienia jelitowego zapewniane są poprzez dodatek soli żółciowych oraz ekstraktu trzustkowego. Ekstrakt trzustkowy może stanowić pankreatyna z trzustki świńskiej bądź mieszanina enzymów zawierająca m.in. proteazy i lipazy trzustkowe, trypsynę, amylazę czy rybonukleazę [Alminger i in. 2014, Mulet-Cabero i in. 2020]. W bardziej zaawansowanych modelach uwzględnia się dodatek soli żółciowych, które uprzednio przygotowuje się poprzez odpowiednie wymieszanie substancji organicznych i nieorganicznych. Generalnie rekomendowany jest następujący stosunek objętościowo/wagowy pomiędzy płynami jelitowymi: 1,5 (pokarm) : 1 (ślina) : 2 (płyn żołądkowy) : 1 (żółć) : 2 (sok trzustkowy) [Neumann i in. 2006]. Zalecane jest by etap trawienia w jelicie cienkim przeprowadzać przez 2 godziny, w temperaturze 37°C. Jeżeli chodzi o pH środowiska, to jest ono różne, i zależy od fragmentu jelita, a jego regulacja możliwa jest poprzez zastosowanie HCl [Seraglio i in. 2021]. Większość trawionego pokarmu wchłaniana jest w dwunastnicy i do stymulacji tego procesu w warunkach *in vitro* wykorzystywane są membrany dializacyjne. Proste systemy wykorzystują worki dializacyjne, których średnica porów dostosowywana jest do wielkości strawionej treści pokarmowej. Przykładowo, średnica porów może wynosić od 6000–8000 Da bądź 1200–1500 Da. Bardziej zaawansowane modele stosują membrany typu hollow-fibre [Neumann i in. 2006]. Etap trawienia w jelicie grubym w większości modeli *in vitro* jest pomijany. Natomiast w doświadczeniach, które obejmują ten proces, należy pamiętać o zapewnieniu odpowiedniego pH (5,8–7,0), czasu (12–36 godz.), ale także konieczne jest zapewnienie obecności właściwej mikroflory [Dima i in. 2020].

Obserwowany wzrost zainteresowania projektowaniem i wytwarzaniem nowej żywności funkcjonalnej determinuje wśród naukowców potrzebę ciągłego poszukiwania nowych bądź ulepszania istniejących systemów trawienia w warunkach *in vitro*, które umożliwi rzetelną ocenę bioprzyswajalności związków bioaktywnych z żywności o aktywności prozdrowotnej.

## **Modele kultur komórkowych *in vitro* do badania transportu transnabłonkowego**

Związki bioaktywne, do których należą polifenole, karotenoidy, fitosterole i inne, posiadają wiele korzystnych właściwości wpływających na ludzki organizm. Jednak bardzo często całkowita ilość, która została spożyta, nie jest wchłaniana do krwiobiegu. Jest to związane z bioaktywnością i bioprzyswajalnością związków. Obecnie konsumenci są coraz bardziej świadomi korzyści

wykraczających poza podstawowe funkcje pożywienia zapewniane przez żywność i składniki spożywcze [Lv i in. 2019]. Między innymi wykazano, że pokarmy roślinne, w tym owoce i warzywa, wykazują wiele korzyści zdrowotnych, ściśle związanych z wysoką zawartością witamin i innych związków bioaktywnych. Związki bioaktywne zanim staną się biodostępne w organizmie, muszą zostać uwolnione z matrycy pokarmowej i zmodyfikowane w przewodzie pokarmowym. Dlatego tak ważne jest, aby wnioski na temat ich potencjalnego prozdrowotnego działania były poprzedzone analizą wpływu procesu trawienia oraz wchłaniania na stabilność tych związków, ponieważ to determinuje ich biodostępność i możliwe korzystne właściwości dla organizmu konsumenta [Carbonell-Capella i in. 2014]. Naukowcy opracowali wiele procedur *in vivo* i *in vitro* stosowanych do oceny biodostępności związków bioaktywnych. Metody te podzielone są na 4 grupy [Lesser i in. 2006, Mahler i in. 2009, Hur i in. 2011, Minekus i in. 2014, Singh i Pai 2015]. Podział przedstawiono w tabeli 1.

Tabela 1. Modele stosowane do oceny biodostępności

Modele <i>in vitro</i>	Modele <i>ex vivo</i>	Modele <i>in situ</i>	Modele <i>in vivo</i>
<ul style="list-style-type: none"> <li>– sztuczne trawienie</li> <li>– sztuczne membrany</li> <li>– hodowle komórkowe</li> <li>– wyizolowanie lub odtworzenie membrany komórkowej</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>– narządy układu pokarmowego w kontrolowanych warunkach w laboratorium</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>– perfuzja jelitowa przeprowadzana na zwierzętach</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>– badania na zwierzętach</li> <li>– badania na ludziach</li> </ul>

Metody *in vitro* są szeroko stosowane do badania przemian żywności lub leków w układzie pokarmowym. Chociaż badania żywieniowe ludzi nadal są uważane za „złoty standard” w odniesieniu do kwestii związanych z dietą, metody *in vitro* mają tę zaletę, że są szybsze, tańsze, mniej pracochłonne i nie mają ograniczeń etycznych. Powtarzalność, wybór kontrolowanych warunków i łatwe pobieranie próbek w interesującym nas miejscu sprawiają, że modele *in vitro* są bardzo przydatne do badań i stawiania hipotez [Minekus i in. 2014]. W niniejszym podrozdziale przedstawiono zastosowanie linii komórkowych do badań nad biodostępnością, ponieważ modele komórkowe cieszą się rosnącym zainteresowaniem środowiska naukowego, co skutkuje ich szerszym zastosowaniem w szczególności w przemyśle farmaceutycznym i kosmetycznym. Badania z zastosowaniem odpowiednich linii komórkowych stają się bardziej realistyczne i reprezentatywne dla fizjologii *in vivo* i stanowią odpowiednią alternatywę dla badań na zwierzętach. Ponadto modele linii komórkowych upraszczają systemy biologiczne, dzięki czemu badania są łatwiejsze. Ustalenie standaryzowanych metod opartych na kulturach komórkowych do badań toksykologicznych, biodostępności i metabolizmu w dziedzinie nauk o żywności i żywieniu człowieka może wprowadzić modele komórek jelitowych do codziennej rutynowej

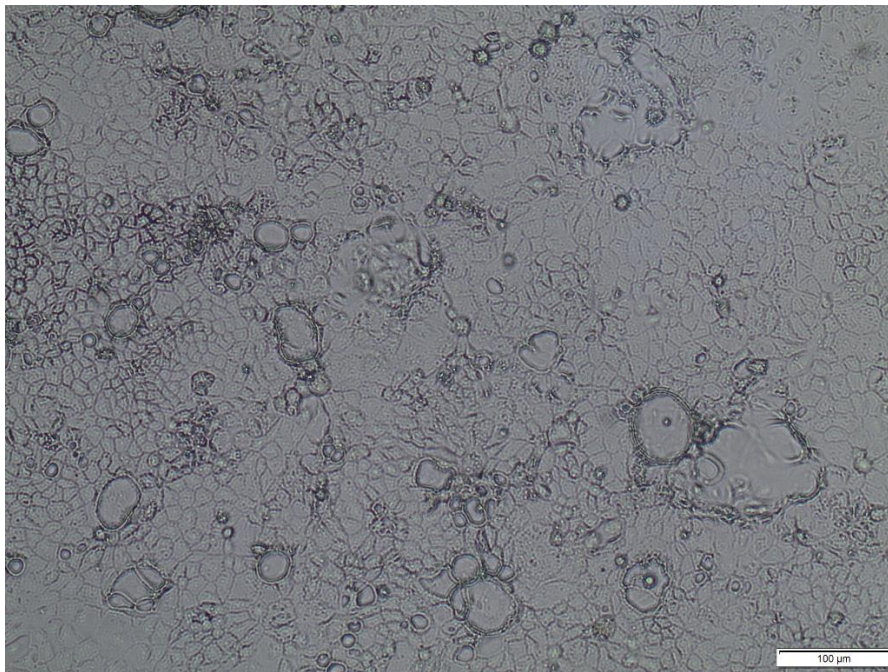


pracy w laboratorium ze względu na ich prostotę, niezawodność i odtwarzalność [Astashkina i in. 2012]. W jelicie zachodzi szereg procesów mających na celu odżywienie organizmu i ochronę przed enteropatogenami lub szkodliwymi substancjami dostającymi się do jelit. Jelito cienkie jest najdłuższą częścią przewodu pokarmowego. Całkowita długość jelita cienkiego u ludzi wynosi około 6 m. Ściana jelita składa się z kilku typów komórek, głównie są to enterocyty, którym towarzyszą komórki odpornościowe. Doskonały model komórki *in vitro* powinien być bezpośrednim substytutem środowiska *in vivo*, odzwierciedlając zarówno naturalne reakcje, jak i złożoną fizjologię jelita. Dlatego linie komórkowe biorące udział w modelach pojedynczej lub wspólnej hodowli muszą zostać dostatecznie scharakteryzowane przed ich użyciem. Charakterystyka ta obejmuje markery nabłonkowe, enzymy rąbka szczoteczkowego, prawidłowe tworzenie ciasnych połączeń, metabolizm wewnętrzny i wrażliwość na hormony lub cząsteczki zapalne. W zależności od modelu można zastosować komórki w różnych stanach aktywacji i zróżnicowania. Hodowle komórek pierwotnych są rzadko stosowane z uwagi na ograniczenia związane z powtarzalnością i czasem trwania badań ze względu na krótki okres życia komórek. Większość obecnych modeli jelitowych linii komórkowych wykorzystuje transformowane linie komórkowe, wyizolowane od osób, które chorowały na choroby nowotworowe [Langerholc i in. 2011].

Spośród nich szczegółowo zbadano Caco-2, najczęściej używaną i uznaną linię komórkową (ryc. 2). Pochodzi ona z ludzkiego gruczolakoraka jelita grubego. Komórki tej linii różnicują się w ciągu 14 do 21 dni w standardowej pożywce hodowlanej. Tworzą jednowarstwowe komórki nabłonkowe z ciasnym połączeniem i wierzchołkowym rąbkiem szczoteczkowym. Zawierają one błonowe enzymy trawienne (peptydazy, disacharydy) oraz enzymy fazy I i II (N-acetylo-transferaza i glutationotransferaza). Zawierają błonowe transportery jonowe oraz membranowe transportery niejonowe. Linia ta charakteryzuje się także obecnością białka związanego z opornością wielolekową (MRP), białka oporności związanego z rakiem płuc (LRP), transportery glukozy (GLUT) oraz zawiera transportery aminokwasów i peptydów [Jochems i in. 2018]. Zaletami tej linii jest to, że może posiadać wysoką oporność elektryczną, naśladuje morfologię warstwy nabłonkowej zarówno jelita cienkiego, jak i grubego. Dzięki zastosowaniu tej linii można badać wchłanianie anionowych i niejonowych substancji. Linia Caco-2 stanowi intensywnie badany model *in vitro*, wyczerpująco scharakteryzowany w literaturze, co należy uznać za istotną zaletę. Komórki Caco-2 są łatwe w hodowli i nie wymagają skomplikowanych podłoży wzrostowych. Minusem jest to, że linia ta nie zawiera komórek kubkowych wytwarzających śluz ani komórek M, które pozwalają na przepuszczalność nanocząsteczek oraz w późniejszym etapie nie różnicują się w tego rodzaju komórki. Subklonami linii Caco-2 są linie TC-7, PD7, PF11, PD10, które charakteryzują się wysokim podobieństwem do modelu Caco-2 [Pearce i in. 2018].

Kolejnym modelem komórek stosowanych do badania biodostępności oraz transportu transnabłonkowego jest linia HT-29 (ryc. 3) oraz jej subpopulacja linia HT-29 MTX (ryc. 4). Są to komórki ludzkiego gruczolakoraka jelita grube-

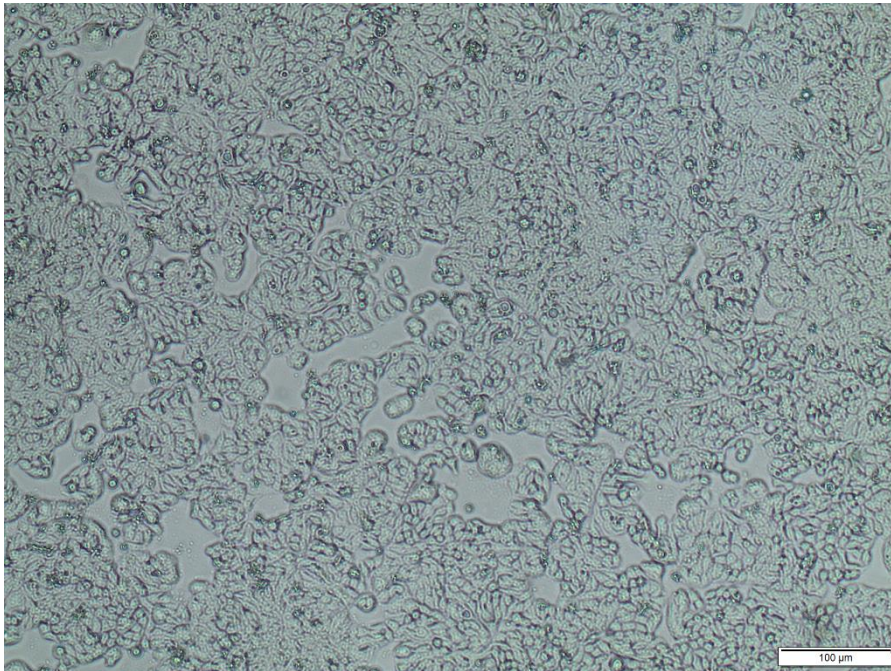
go, które tworzą linię niezróżnicowanych komórek połączonych ciasnymi połączeniami. Zawierają one komórki kubkowe, które wydzielają mucynę oraz hydrolazy w wierzchołkowej części rąbka szczoteczkowego, z wyjątkiem maltazy i laktazy. Wytwarzają cytokiny i zawierają transportery peptydów (PEPT2, PHT1). Dużą zaletą tych linii jest wytwarzanie warstwy śluzu, która pozwala na badanie bioadhezji bakterii i nanocząstek. Komórki linii HT-29 są łatwe w hodowli i nie wymagają skomplikowanych technologii. Wadą jest to, że są to komórki pochodzenia rakowego, nie są więc standardowym modelem do badania wchłaniania i metabolizmu biokomponentów [Dima i in. 2020].



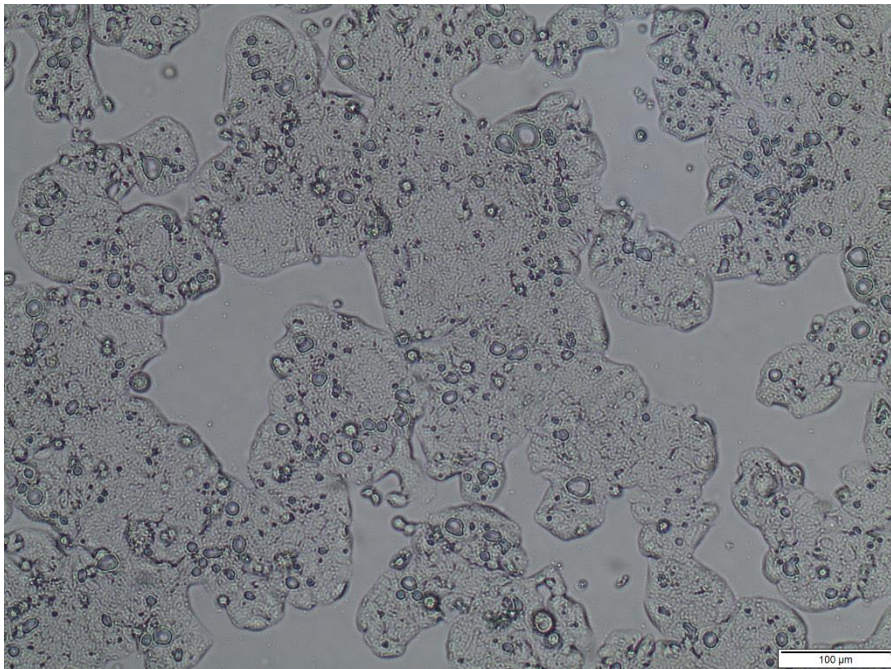
Ryc. 2. Komórki linii Caco-2 tworzące monowarstwę (fot. Klaudia Kowalik)

W celu jak najbardziej wiarygodnego odwzorowania warunków panujących w przewodzie pokarmowym człowieka coraz częściej stosuje się kokultury linii Caco-2 oraz linii HT-29 MTX. Wspólne hodowle komórek tych linii mogą tworzyć zlewające się monowarstwy komórek o ścisłych połączeniach i charakteryzują się obecnością warstwy śluzu, co zapewnia zewnątrzkomórkową ochronę. Komórki HT-29 MTX są zdolne do transportu aminokwasów i dipeptydu (Gly-Pro), dzięki czemu mogą służyć jako fizjologicznie istotny model ludzkiego nabłonka jelitowego *in vitro* [Lv i in. 2019]. Wadą takiego modelu jest to, że przygotowanie i prowadzenie hodowli jest pracochłonne i czasochłonne, a czas przeżycia komórek jest krótki.





Ryc. 3. Linia HT-29 (fot. Klaudia Kowalik)



Ryc. 4. Linia HT-29 MTX (fot. Klaudia Kowalik)

Inną linią wykorzystywaną do badań nad biodostępnością jest linia T-84. Jest to linia pochodząca z przerzutów raka okrężnicy do płuc. Zawiera białka (klaudyny, okludynę), które tworzą ścisłe połączenia między komórkami enterocytów i kolonocytów. Różnicują się i tworzą monowarstwę komórek nabłonka o morfologii podobnej do enterocytów jelita cienkiego. Długość mikrokosmków pojedynczej warstwy rąbka szczoteczkowo-wierzchołkowego linii T-84 jest mniejsza niż pojedynczej warstwy komórek Caco-2 oraz nie zawiera hydrolaz. Minusem może być to, że zróżnicowane komórki T-84 wyrażają geny specyficzne dla kolonocytów, czyli dla komórek jelita grubego [Devriese i in. 2017].

Kolejnym dobrze opisanym modelem stosowanym w badaniach jest linia komórkowa IPEC-J2. Pochodzi ona z jelita czczego nowo narodzonego prosięcia. Linia ta tworzy monowarstwę enterocytów po 1 do 2 tygodni hodowli. Monowarstwa jest spolaryzowana o niskim lub wysokim transnabłonkowym oporze elektrycznym (TEER). Model IPEC-J2 zawiera wiele typów komórek podobnych do świńskiego jelita cienkiego. Nie są to komórki rakowe i model ten naśladuje fizjologię ludzkiego jelita cienkiego. Komórki tej linii są wykorzystywane do badania przepuszczalności nabłonka, metabolizmu i wpływu bakterii probiotycznych i biokomponentów na parametry błony, takie jak przepuszczalność, transnabłonkowy opór elektryczny i aktywność metaboliczna. Dużą wadą modelu jest to, że komórki IPEC-J2 nie są pochodzenia ludzkiego [Zakrzewski i in. 2013].

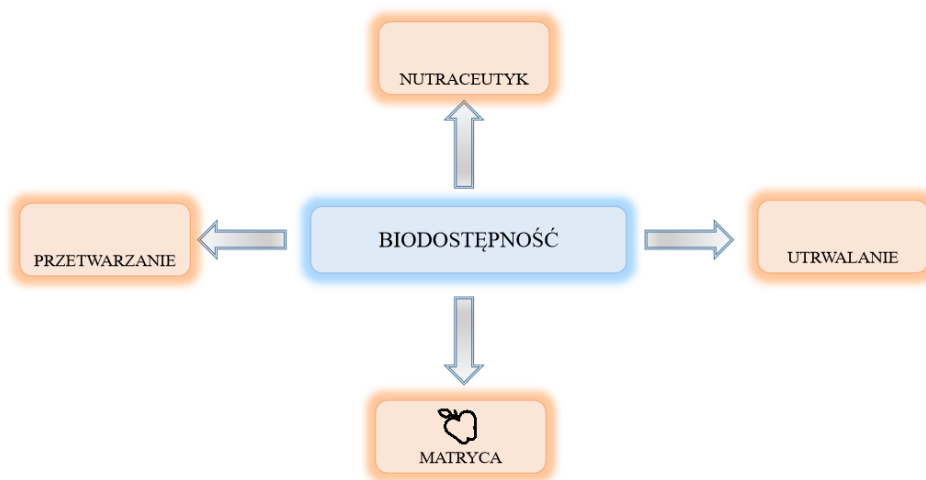
Oznaczanie biodostępności związków, transport transnabłonkowy oraz przepuszczalność błony przeprowadzana jest na specjalnych płytkach hodowlanych najczęściej 6-dołkowych lub 12-dołkowych wraz z insertami, na których znajdują się rosnące komórki. Wszystkie wymienione linie komórkowe są liniami adherentnymi, co oznacza, że aby mogły rosnąć, potrzebują odpowiedniego podłoża do adhezji. Po naniesieniu odpowiedniej gęstości komórek (która zależy od wybranej linii komórkowej) hodzi się je aż do momentu osiągnięcia prawidłowej wartości TEER (transnabłonkowy opór elektryczny). Osiągnięcie niezmiennych i wysokich wartości TEER świadczy o tym, że hodowla znajduje się w fazie stacjonarnej. Wartości transnabłonkowego oporu elektrycznego dają nam informacje na temat integralności błony komórkowej [Elbrecht i in. 2016]. Spójność monowarstwy jest bardzo ważnym czynnikiem i jakiegokolwiek uszkodzenia i nieszczelności oraz niskie wartości oporu powinny eliminować taką linię z dalszych badań nad biodostępnością. Po osiągnięciu prawidłowej wartości transnabłonkowego oporu elektrycznego można oznaczyć przepuszczalność błony za pomocą dekstranu znakowanego fluorescencyjnie (FITC-dekstran) oraz biodostępność. Badanie biodostępności polega na umieszczeniu w dołku płytki hodowlanej roztworu badanej substancji rozpuszczonej w pożywce. Następnie po określonym czasie pobiera się próbki i oznacza stężenia substancji badanej, wykorzystując metody analityczne [Cremonini i in. 2017].

Podsumowując, dotychczasowe modele *in vitro* nie zapewniły łatwo dostępnego nienowotworowego modelu, który dokładnie odzwierciedla zdrowe jelito grube, ale modele te mają znaczenie w zależności od zastosowania. Wadą powyższej opisanych typów komórek jest brak różnorodności komórkowej, ponieważ

normalny nabłonek jelitowy składa się z kilku typów komórek. Jednak korzyści stosowania linii komórkowych *in vitro* przewyższają ich wady, ponieważ dzięki nim zostało zmniejszone wykonywanie kosztownych eksperymentów na zwierzętach, podjęto próby zbudowania niedrogich i wygodnych modeli funkcjonalnych komórek jelitowych do badania toksyczności i biodostępności nowych substancji, a także dostarczono odpowiednich modeli do badania interakcji między żywicielem, patogenami i mikroflorą jelitową.

### Czynniki wpływające na biodostępność składników odżywczych (matryca żywności, przetwarzanie, utrwalanie)

Na biodostępność żywności funkcjonalnej wpływa wiele czynników, od rodzaju nutraceutyku i jego właściwości, matrycy żywnościowej i jej sposobu przetwarzania do procesów utrwalania produktu (ryc. 5). W kontekście rodzaju substancji bioaktywnych oraz ich poziomu biodostępności i bioprzyswajalności przez organizm człowieka istotne są właściwości fizykochemiczne, którymi się charakteryzują. Należą do nich: struktura chemiczna, lipofilność, ale także stan skupienia [Gharehbeglou i Jafari 2019].



Ryc. 5. Czynniki wpływające na biodostępność składników odżywczych

Większość związków o korzystnych właściwościach prozdrowotnych pozyskiwana jest z naturalnych produktów roślinnych i występuje w formie krystalicznej lub bezpostaciowej o wysokiej temperaturze topnienia i różnej rozpuszczalności w wodzie [Taghvaei i Jafari 2015]. Masa cząsteczkowa oraz struktura

chemiczna odgrywają kluczową rolę w procesie biodostępności oraz wchłaniania nutraceutyków w komórkach nabłonka jelit. Na poziom biodostępności istotny wpływ ma również zależność pomiędzy rozpuszczalnością a lipofilnością związków. Częsteczki rozpuszczalne w tłuszczach charakteryzują się niską rozpuszczalnością w płynach żołądkowo-jelitowych, ale łatwiej im przeniknąć przez dwuwarstwą lipidową komórek nabłonka (np. rezweratrol). Z kolei związki hydrofilowe, które się łatwo rozpuszczają, charakteryzują się niską przepuszczalnością przez błony komórkowe. Do takich substancji możemy np. zaliczyć witaminę C [Faridi Esfanjani i in. 2018, Yadav i in. 2018]. Witaminy są bioaktywnymi molekułami wywierającymi prozdrowotny wpływ na organizm człowieka. Stymulują układ odpornościowy, wzmacniają funkcje komórkowe, obniżają poziom cholesterolu czy zapobiegają powstawaniu i rozwojowi nowotworów. Biodostępność witamin zależy od ich hydrofilności. Część z nich, rozpuszcza się w wodzie (witamina C), natomiast niektóre (A, D, E, K) są rozpuszczalne w tłuszczach. Witaminy rozpuszczalne w tłuszczach ze względu na swój hydrofobowy charakter mają niższą biodostępność. Generalnie witaminy są wrażliwe na ciepło i utlenianie, a także na procesy przetwarzania, co również skutkuje obniżeniem poziomu ich przyswajalności [Katouzian i Jafari 2016]. Kolejnym dobrym przykładem obrazującym wpływ właściwości fizykochemicznych nutraceutyków na biodostępność jest kurkumina. Ten organiczny związek ze względu na swoją budowę chemiczną jest zarówno słabo rozpuszczalny, jak i ma słabą przenikalność przez membrany komórkowe. Wpływ budowy i właściwości chemicznych związku na różnice w biodostępności możemy zaobserwować na przykładzie polifenoli. Związki fenolowe, do których zaliczyć możemy kwasy fenolowe, flawonoidy i lignany, należą do metabolitów wtórnych występujących u wszystkich roślin naczyniowych. Aktywność biologiczna tych związków opiera się na ich właściwościach antyoksydacyjnych, które powodują zmiatanie wolnych rodników. Jednakże polifenole ze względu na słabą rozpuszczalność charakteryzują się niską biodostępnością. Dodatkowo są wrażliwe na wysoką temperaturę i światło. Związki te mogą występować jako polimery lub w formie glikozylowanej i mogą być wchłaniane dopiero po ich hydrolizie przez enzymy trawienne lub mikroflorę jelitową [Rein i in. 2012]. Również na trawienie i wchłanianie kwasów tłuszczowych wpływa wewnątrzcząsteczkowa struktura triacyloglicerydów (ang. triacylglyceride, TAG). Komórki nabłonka wchłaniają tylko kwasy tłuszczowe w postaci zhydrolizowanej lub jako 2-monoacyloglicerole [Michalski 2009]. Dodatkowo obecne w żywności inne składniki mogą oddziaływać na substancje o charakterze prozdrowotnym, powodując ich degradację. Przykładem mogą być wielonienasycone kwasy tłuszczowe (ang. polyunsaturated fatty acids, PUFA), retinol oraz kwas linolowy, które ulegają rozkładowi w wyniku reakcji utleniania spowodowanej obecnością enzymów, metali prooksydacyjnych oraz tlenu. Z kolei wchłanianie minerałów, takich jak wapń czy żelazo, może być obniżone przez obecność w matrycy żywności fosforanów, szczawianów lub fitynianów [Soleimanifar i in. 2019].

Kolejnym istotnym czynnikiem wpływającym na biodostępność związków odżywczych żywności jest rodzaj matrycy. Matryca pokarmowa to złożony sys-

tem o specyficznej mikrostrukturze, w którym składniki oddziałują na siebie, zmieniając biofunkcjonalność związków, jaką wykazywałyby w postaci wolnej. Matryca spożywcza to produkt, którego wartość odżywcza jako całość jest wyższa niż suma wartości odżywczej poszczególnych jej komponentów. Efekty matrycowe, które odpowiedzialne są za stabilność i uwalnianie nutraceutyków, ale także właściwości fizykochemiczne produktu, takie jak smak czy barwa, wpływają na właściwości bioaktywne, biodostępność i bioprzyswajalność. Dlatego też należy brać je pod uwagę w trakcie projektowania żywności funkcjonalnej [Aguilera i in. 2018]. Badania przeprowadzone przez Crippa i in. [2016] dowiodły, iż rodzaj matrycy żywności wpłynął na obniżenie ciśnienia krwi. Istnieje wiele rodzajów substancji pomocniczych, których funkcją jest poprawa biodostępności składników żywności. Aby zwiększyć wchłanianie lipofilnych cząsteczek pochodzenia roślinnego, przygotowywane są specjalne formuły produktu np. dressingi, zawierające oleje roślinne, dzięki którym ekstrakcja hydrofobowych cząsteczek z tkanek roślinnych zwiększa się, ułatwiając tym samym ich rozpuszczanie w jelitach [McClements i Xiao 2014]. Z kolei proces trawienia związków polifenolowych zawartych w roślinach jest utrudniony ze względu na występowanie bariery, jaką stanowi ściana komórkowa. Jej uszkodzenie powoduje, iż związki fenolowe mogą łączyć się z włóknami pokarmowymi, tworząc połączenia, w których związki te są zarówno słabo ekstrahowalne, jak i słabo rozpuszczalne w płynach żołądkowo-jelitowych. Proantocyjanidyny o dużej masie cząsteczkowej i hydrolizowane taniny stanowią ponad 75% wszystkich spożywanych polifenoli i mogą ściśle wiązać się z włóknami pokarmowymi, co ogranicza ich biodostępność [Arranz i in. 2010]. W otrębach pszennych kwas ferulowy i parakumarowy są w większości związane z arabinksylianami i ligniną, a więc są nierozpuszczalne, natomiast kwas sinapowy występuje głównie w rozpuszczalnych formach sprzężonych, zestryfikowanych z cukrami i innymi związkami. Badania wykazały, że biodostępność kwasu sinapowego z pieczywa bogatego w otręby była znacznie wyższa niż kwasu ferulowego i parakumarowego. Ponadto rozdrobnienie frakcji otrąb zwiększało biodostępność kwasów fenolowych [Hemery i in. 2010].

Podczas projektowania żywności funkcjonalnej konieczne jest zastosowanie procesów, które umożliwią wydłużenie jej trwałości i przydatności do spożycia. Wiąże się to ze zmianą właściwości fizykochemicznych matrycy żywnościowej, co wpływa tym samym na biodostępność i bioprzyswajalność produktu. Obróbka termiczna, mechaniczna, chemiczna i biochemiczna powodują denaturację białek, utratę wody i elektrolitów, żelowanie polisacharydów lub też zwiększanie bądź obniżanie zawartości substancji antyodżywczych [Jafari i in. 2017]. Niepożądana degradacja związków odżywczych w matrycy żywnościowej wpływa na zmiany bioaktywności i jakość sensoryczną końcowego produktu. W przemyśle spożywczym do utrwalania produktów najczęściej wykorzystywane są metody oparte na procesach cieplnych. Jednakże są one także najbardziej agresywne [Evrendilek 2018]. Przykładowo, w trakcie gotowania marchew traci całą zawartość polifenoli, podczas gdy gotowanie na parze i smażenie powoduje obniżenie zawartości tych związków do ok. 40%. Z drugiej strony łagodna ob-



róbka termiczna marchwi zwiększyła biodostępność karotenu [Knockaert i in. 2011]. Jednakże obróbka termiczna może indukować przemianę biokomponentów żywności w związki toksyczne o charakterze mutagennym. Dlatego też naukowcy stale poszukują alternatywnych metod konserwacji, które jako czynnik sterylizujący nie wykorzystują podwyższonej temperatury. Do takich technik zaliczyć możemy wysokie ciśnienie hydrostatyczne (ang. high hydrostatic pressure, HHP), pulsacyjne pole elektryczne (ang. pulsed electric field, PEF) czy zimną plazmę (ang. cold plasma, CP). Wpływ przetwarzania HPP na właściwości produktów spożywczych był przedmiotem wielu badań w ciągu ostatnich lat. Briones-Labarca i in. [2011] przeprowadzili doświadczenia na jabłkach utrwalonych wysokim ciśnieniem (500 MPa), które następnie poddawano trawieniu *in vitro*. Uzyskane wyniki badań sugerują, iż zastosowanie HPP wpłynęło korzystnie na uwalnianie związków przeciwutleniających w jelicie cienkim. Poza stosowaniem nowych technik utrwalania wprowadzane są również systemy pakowania żywności o właściwościach antybakteryjnych. Dodatkowo wzbogaca się je o nanomateriały, które zapobiegają utracie nutraceutyków z matrycy żywnościowej [Vahedikia i in. 2019]. Podczas przetwarzania i przechowywania związki takie jak białka mogą ulec istotnym przemianom chemicznym, prowadzącym do obniżenia ich wartości odżywczej. Istotnym elementem wpływającym na strawność białek oraz biodostępność aminokwasów są substancje antyodżywcze, które mogą powstać podczas obróbki termicznej lub też mogą być obecne w matrycy pokarmowej. Związki te mogą powstać w wyniku reakcji Maillarda oraz w trakcie tworzenia lizynoalaniny i recemizacji L-aminokwasów do D-aminokwasów [Gilani i in. 2012, Lund i Ray 2017]. Przetwarzanie żywności wykorzystujące mechaniczne zniszczenie struktur matrycy roślinnej, tj. siekanie, rozdrabnianie, zgniatanie czy też rozcieranie, może poprawić wchłanianie substancji aktywnych na skutek rozbicia struktury ścian komórkowych [Dima i in. 2020].

Problemy związane z biodostępnością i bioprzyswajalnością składników aktywnych, związane z ich charakterem chemicznym (hydrofilowość), można poprawić poprzez wpływ na rozpuszczalność, sposób uwalniania lub też poprawę wchłaniania substancji przez błony biologiczne. Zastosowanie nanoenkapsulacji z nośnikami hydrofilowymi okazało się bardzo wydajną metodą, ponieważ nano-nośniki można zaprojektować tak, aby jednocześnie przyczyniały się do poprawy wszystkich czynników wpływających na biodostępność [Alexander i in. 2016]. Mają bardzo mały rozmiar, bardzo dużą powierzchnię międzyfazową oraz duży ładunek elektryczny. Właściwości te mają wiele zalet jeśli chodzi o dostarczanie substancji aktywnych, takich jak ochrona nutraceutyków przed czynnikami zewnętrznymi oraz przed niskim pH i enzymami trawiennymi w przewodzie pokarmowym. Większość substancji wymaga ochrony ze względu na swoje charakterystyczne cechy związane z budową cząsteczek. Olejki eteryczne, olej rybny i niektóre inne nutraceutyki posiadają nieprzyjemny smak, który może przyczynić się do ograniczenia ich spożycia. Dlatego też nanoenkapsulacja jest również przydatna do maskowania niepożądanych smaków w żywności. Ogólnie rzecz biorąc, stosowanie nano-nośników może zwiększyć wartość terapeutyczną



Tabela 2. Przykłady nośników hydrofobowych składników bioaktywnych w żywności

Rodzaj nośnika	Substancja bioaktywna	Wpływ na biodostępność	Źródło
Dekstran	witamina E	witamina E wykazywała zwiększone uwalnianie w płynach żołądkowych w porównaniu z płynami jelitowymi	Fathi i in. 2017
Kwas benzoesowy – chitozan	olejki eteryczne z rozmarynu	aktywność przeciwdrobnoustrojowa olejków eterycznych wzrosła	Mohsenabadi i in. 2018
Alkohol poliwinylowy (PVA)	olejek eteryczny cynamonowy	wzrost stabilność termicznej i aktywności przeciwdrobnoustrojowej olejków	Wen i in. 2016
Albumina surowicy bydłowej	rezweratrol	poprawa właściwości biofarmaceutycznych (wydłużenie czasu uwalniania, wzrost aktywności przeciwutleniającej)	Fonseca i in. 2017
Olej z mikroalg	tokoferol	poprawa stabilności związku w wysokiej temperaturze.	Xu i in. 2016
Chitozan/guma arabska	kurkumina	wzrost aktywność antyoksydacyjna kurkuminy; poprawa stabilności i opóźnienie uwalniania kurkuminy w symulowanych warunkach żołądkowo-jelitowych	Tan i in. 2016
Chitozan/pullulan	kwas garbnikowy/taninowy	działanie antybakteryjne przeciwko <i>E. coli</i>	Xu i in. 2015
Guma migdałowa	wanilina	stabilność termiczna waniliny wzrosła po kapsułkowaniu	Rezaei i in. 2016
Chitozan	olejek eteryczny z limonki	wzrosła aktywność antybakteryjna olejków eterycznych	Sotelo-Boyas i in. 2017
Olej kukurydźniany	karotenoidy	biodostępność alfa i beta-karotenu w nośnikach o małej wielkości wynosiła do 70%.	Salvia-Trujillo i in. 2017

i bioaktywną związków. Nanonośniki przedłużają obecność środków leczniczych we krwi i wychwyt komórkowy [Blanco-Padilla i in. 2014]. Ostatnio na całym świecie zażywanie leków ziołowych czy też spożywanie żywności o korzystnym działaniu zwiększyło się ze względu na działanie terapeutyczne i mniej działań niepożądanych w porównaniu z nowoczesnymi lekami. Jednakże wiele leków ziołowych i ekstraktów ziołowych pomimo imponujących aktywności *in vitro* wykazuje mniejszą lub nieznaczną aktywność *in vivo* [Ajazuddin i in. 2014]. Lipidy są najczęściej stosowanymi materiałami do tworzenia nanonośników, przede wszystkim ze względu na ich zdolność do rozpuszczania składników lipofilnych. Oleje wykorzystywane są do wytwarzania nanoemulsji, mikroemulsji i koncentratów lipidów. Tłuszcze są używane w przygotowaniu stałych nanocząstek lipidowych (SLN) i nanostrukturalnych nośników lipidowych (NLC). Natomiast fosfolipidy spotykane w błonach komórkowych są wykorzystywane do wytwarzania liposomów, heksosomów czy kubosomów. Do tworzenia nanonośników używane są

także biopolimery. Głównie stosuje się biopolimery naturalne i biodegradowalne, takie jak polisacharydy, białka czy też glikol polietylenowy (PEG). Przy wyborze polimerów należy wziąć pod uwagę ich strukturę chemiczną, rozpuszczalność, siłę jonową, właściwości powierzchniowe, podatność na enzymy i reaktywność chemiczną na inne składniki [Katouzian i Jafari 2016]. W tabeli 2 przedstawiono różne systemy dostarczania substancji aktywnych.

Podsumowując, nanotechnologie farmaceutyczne okazały się najbardziej wydajnymi i niezawodnymi systemami dostarczania substancji o charakterze prozdrowotnym do komórek i tkanek, ponieważ zwiększają rozpuszczalność, absorpcję, farmakokinetkę, dostępność biologiczną i zapewniają ochronę przed toksycznością.

## Podsumowanie

W ostatnich latach obserwuje się rosnące zainteresowanie wśród konsumentów żywnością funkcjonalną oraz ciągły wzrost sprzedaży tego typu produktów. Wychodząc naprzeciw zapotrzebowaniu rynku, naukowcy wciąż poszukują nowych substancji bioaktywnych z roślin oraz projektują nowe nutraceutyki z ich wykorzystaniem. W celu badania aktywności prozdrowotnej produktów spożywczych naukowcy opracowali modele badawcze *in vitro* służące ocenie stopnia przyswajalności i biodostępności związków aktywnych w żywności. Opracowano modele przewodu pokarmowego, których zadaniem jest odtworzenie naturalnych warunków trawienia pokarmu w przewodzie pokarmowym człowieka. Biodostępność związków bioaktywnych po etapie trawienia badana jest z zastosowaniem modelu linii komórkowych ludzkich enterocytów. Biodostępność składników żywności i potencjalne działanie prozdrowotne żywności funkcjonalnej zależą od rodzaju nutraceutyku i jego właściwości, matrycy żywnościowej i jej sposobu przetwarzania do procesów utrwalania produktu. Zastosowanie modeli badawczych *in vitro* przyczyniło się do zrozumienia procesów transportu transbłonkowego oraz poznania czynników determinujących biodostępność związków bioaktywnych. Bardzo ważne jest pogłębianie wiedzy w tym zakresie również poprzez wykonywanie badań walidacyjnych i porównywanie wyników uzyskanych w badaniach *in vitro* i *in vivo*.

## Piśmiennictwo

- Aguilera J.M., 2018. The food matrix: Implications in processing, nutrition and health. Crit. Rev. Food Sci. Nutr. 10, 1–18, <https://doi.org/10.1080/10408398.2018.1502>
- Alexander A., Patel R.J., Saraf S., Saraf, S., 2016. Recent expansion of pharmaceutical nanotechnologies and targeting strategies in the field of phytopharmaceuticals for the delivery of herbal extracts and bioactives. J. Control Release, 241, 110–124, <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2016.09.017>
- Alminger M., Aura A.-M., Bohn T., Dufour C., El S.N., Gomes, A., Karakaya S., Martínez-Cuesta M.C., McDougall G.J., Requena T., Santos C.N., 2014. *In vitro* models for studying secondary plant metabolite digestion and bioaccessibility. Compr. Rev. Food Sci. Food Saf. 13, 413–436, <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12081>

- Astashkina A., Mann B., Grainger D.W., 2012. A critical evaluation of *in vitro* cell culture models for high-throughput drug screening and toxicity. *Pharmacol. Ther.* 134, 82–106, <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2012.01.001>
- Arranz S., Manuel Silvan J., Saura-Calixto F., 2010. Nonextractable polyphenols, usually ignored, are the major part of dietary polyphenols: A study on the Spanish diet. *Mol. Nutr. Food Res.* 54, 1646–1658, <https://doi.org/10.1002/mnfr.200900580>
- Ajazuddin, Alexander A., Qureshi A., Kumari L., Vaishnav P., Sharma M., Saraf S., Saraf S., 2014. Role of herbal bioactives as a potential bioavailability enhancer for active pharmaceutical ingredients. *Fitotherapy* 97, 1–14, <https://doi.org/10.1016/j.fitote.2014.05.005>
- Blanco-Padilla A., Soto K.M., Hernández Iturriaga M., Mendoza S., 2014. Food antimicrobials nanocarriers. *Sci. World J.* Article ID 837215, <https://doi.org/10.1155/2014/837215>
- Blanquet-Diot S., Soufi M., Rambeau M., Rock E., Alric M., 2009. Digestive stability of xanthophylls exceeds that of carotenes as studied in a dynamic *in vitro* gastrointestinal system. *J. Nutr.* 139, 876–883, <https://doi.org/10.3945/jn.108.103655>
- Briones-Labarca V., Venegas-Cubillos G., Ortiz-Portilla S., Chacana-Ojeda M., Maureira H., 2011. Effects of high hydrostatic pressure (HHP) on bioaccessibility, as well as antioxidant activity, mineral and starch contents in Granny Smith apple. *Food Chem.* 128, 520–529, <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.03.07>
- Brodkorb A., Egger L., Alminger M., Alvito P., Assunção R., Ballance S., Bohn T., Bourlieu-Lacanal C., Boutrou R., Carrière F., i in., 2019. INFOGEST static *in vitro* simulation of gastrointestinal food digestion. *Nat. Protoc.* 14, 991–1014, <https://doi.org/10.1038/s41596-018-0119-1>
- Chacón-Ordóñez T., Carle R., Schweiggert R., 2019. Bioaccessibility of carotenoids from plant and animal foods. *J. Sci. Food Agric.* 99, 3220–3239, <https://doi.org/10.1002/jsfa.9525>
- Carbonell-Capella J.M., Buniowska M., Barba F.J., Esteve M.J., Frígola A., 2014. Analytical methods for determining bioavailability and bioaccessibility of bioactive compounds from fruits and vegetables: A review. *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.* 13, 155–171, <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12049>
- Cremonini E., Mastaloudis A., Hester S.N., Verstraeten S.V., Anderson M., Wood S.M., Waterhouse A.L., Fraga C.G., Oteiza P.I., 2017. Anthocyanins inhibit tumor necrosis alpha-induced loss of Caco-2 cell barrier integrity. *Food Funct.* 8, 2915–2923, <https://doi.org/10.1039/c7fo00625j>
- Crippa G., Zabzuni D., Bravi E., Rossi F., 2016. Antihypertensive effect of milk-derivative tripeptides. Randomized, double-blind, placebo-controlled study on the effects of Grana Padano cheese dop in hypertensive patients. *J. Hypertens.* 34 (Suppl. 1), 55–56, <https://doi.org/10.1097/01.hjh.0000499995.03>
- Devriese S., Van den Bossche L., Van Welden S., Holvoet T., Pinheiro I., Hindryckx P., De Vos M., Laukens D., 2017. T84 monolayers are superior to Caco-2 as a model system of colonocytes. *Histochem. Cell Biol.* 148, 85–93, <https://doi.org/10.1007/s00418-017-1539-7>
- Dima C., Assadpour E., Dima S., Jafari S.M., 2020 Bioavailability and bioaccessibility of food bioactive compounds; overview and assessment by *in vitro* methods. *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.* 19, 2862–2884, <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12623>
- Dupont D., Alric M., Blanquet-Diot S., Bornhorst G., Cueva C., Deglaire A., S. Denis, M. Ferrua, R. Havenaar, J. Lelieveld, A. R. Mackie, M. Marzorati, O. Menard, M. Minekus, B. Miralles, I. Recio, P. Van den Abbeele, 2019. Can dynamic *in vitro* digestion systems mimic the physiological reality? *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 59, 1546–1562, <https://doi.org/10.1080/10408398.2017.1421900>
- Elbrecht D.H., Long C.J., Hickman J.J., 2016. Transepithelial/endothelial electrical resistance (TEER) theory and applications for microfluidic body-on-a-chip devices. *J. Rare Dis. Res. Treat.* 1, 46–82, <https://doi.org/10.29245/2572-9411/2016/3.1026>
- Evrendilek G.A., 2018. Effects of high pressure processing on bioavailability of food components. *J. Nutr. Food Sci.* 8, 676–681, <https://doi.org/10.417/2155-9600.1000676>
- Faridi Esfanjani A., Assadpour E., Jafari S.M., 2018. Improving the bioavailability of phenolic compounds by loading them within lipid-based nanocarriers. *Trends Food Sci. Technol.* 76, 56–66, <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2018.04.002>

- Fathi M., Nikbakht Nasrabadi M., Varshosaz J., 2017. Characteristics of vitamin E loaded nanofibers from dextran. *Int. J. Food Prop.* 20, 2665–2674, <https://doi.org/10.1080/10942912.2016.1247365>
- Fonseca D.P., Khalil N.M., Mainardes R.M., 2017. Bovine serum albumin-based nanoparticles containing resveratrol: Characterization and antioxidant activity. *J. Drug Deliv. Sci. Technol.* 39, 147–155, <https://doi.org/10.1016/j.jddst.2017.03.017>
- Galanakis C., 2017. *Nutraceutical and Functional Food Components*. Elsevier Academic Press.
- Gilani G.S., Xiao C.W., Cockell A.K., 2012. Impact of antinutritional factors in food proteins on the digestibility of protein and the bioavailability of amino acids and on protein quality. *Br. J. Nutr.* 108(S2), S315–S332, <https://doi.org/10.1017/S0007114512002371>
- Gharehbeglou P., Jafari S.M., 2019. Antioxidant components of Brassica vegetables including turnip and the influence of processing and storage on their anti-oxidative properties. *Curr. Med. Chem.* 26, 4559–4572, <https://doi.org/10.2174/09298673256661811>
- Hemery Y.M., Anson N.M., Havenaar R., Haenen G.R.M.M., Noort M.W.J., Rouau X., 2010. Dry-fractionation of wheat bran increases the bioaccessibility of phenolic acids in breads made from processed bran fractions. *Food Res. Int.* 43, 1429–1438, <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2010.04.013>
- Henning S.M., Zhang Y., Rontoyanni V.G., Huang J., Lee R.P., Trang A., Nuernbenger G., Heber D., 2014. Variability in the antioxidant activity of dietary supplements from pomegranate, milk thistle, green tea, grape seed, goji, and acai: effects of *in vitro* digestion. *J. Agric. Food Chem.* 62, 4313–4321, <https://doi.org/10.1021/jf500106r>
- Hur S.J., Lim B.O., Decker E.A., McClements D.J., 2011. *In vitro* human digestion models for food applications. *Food Chem.* 125, 1–12, <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.08.036>
- Jafari S.M., Jabari S.S., Dehnad D., Shahidi S.A., 2017. Effects of thermal processing by nanofluids on vitamin C, total phenolics and total soluble solids of tomato juice. *J. Food Sci. Technol.* 54, 679–686, <https://doi.org/10.1007/s13197-017-2505-z>
- Jochems P.G.M., Garssen J., Van Keulen A.M., Masereeuw R., Jeurink P.V., 2018. Evaluating human intestinal cell lines for studying dietary protein absorption. *Nutrients* 10, 322, <https://doi.org/10.3390/nu10030322>
- Kaulmann A., André C. M., Schneider Y.J., Hoffmann L., Bohn T., 2016. Carotenoid and polyphenol bioaccessibility and cellular uptake from plum and cabbage varieties. *Food Chem.* 197, 325–332, <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.10.049>
- Katouzian I., Jafari S.M., 2016. Nano-encapsulation as a promising approach for targeted delivery and controlled release of vitamins. *Trends Food Sci. Technol.* 53, 34–48, <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2016.05.002>
- Knockaert G., De Roeck A., Lemmens L., Van Buggenhout S., Hendrickx M., 2011. Effect of thermal and high pressure processes on structural and health related properties of carrots (*Daucus carota*). *Food Chem.* 125, 903–912, <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.09.0>
- Langerholc T.; Maragkoudakis P.A.; Wollgast J.; Gradisnik L., Cencic A., 2011. Novel and established intestinal cell line models – An indispensable tool in food science and nutrition. *Trends Food Sci. Technol.* 22, S11, <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2011.03.010>
- Lesser S., Cermak R., Wolfram S., 2006. The fatty acid pattern of dietary fat influences the oral bioavailability of the flavonol quercetin in pigs. *Br. J. Nutr.* 96, 1047–1052, <https://doi.org/10.1017/BJN20061953>
- Li C., Yu W., Wu P., Chen X.D., 2020. Current *in vitro* digestion systems for understanding food digestion in human upper gastrointestinal tract. *Trends Food Sci. Technol.* 96, 114–126, <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2019.12.015>
- Lucas-Gonzales R., Navarro-Coves S., Pérez-Álvarez J.A., Fernández-López, J., Muñoz L.A., Viuda-Martos M., 2016. Assessment of polyphenolic profile stability and changes in the antioxidant potential of maqui berry (*Aristotelia chilensis* (Molina) Stuntz) during *in vitro* gastrointestinal digestion. *Ind. Crops Prod.* 94, 774–782, <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2016.09.057>
- Lucas-Gonzalez R., Viuda-Martos M., Pérez-Alvarez J.A., Fernandez-López, J. 2018. *In vitro* digestion models suitable for foods: Opportunities for new fields of application and challenges. *Food Res. Int.* 107, 423–436, <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.02.055>

- Lund M.N., Ray C.A., 2017. Control of Maillard Reactions in foods: Strategies and chemical mechanisms. *J. Agr. Food Chem.* 6523, 4537–4552, <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.7b00882>
- Lv Q., He Q., Wu Y., Chen X., Ning Y., Chen Y., 2019. Investigating the Bioaccessibility and Bioavailability of Cadmium in a Cooked Rice Food Matrix by Using an 11-Day Rapid Caco-2/HT-29 Co-culture Cell Model Combined with an *In Vitro* Digestion Model. *Biol. Trace Elem. Res.* 190, 336–348, <https://doi.org/10.1007/s12011-018-1554-0>
- Mahler G.J., Shuler M.L., Glahn R.P., 2009. Characterization of Caco-2 and HT29-MTX cocultures in an *in vitro* digestion/cell culture model used to predict iron bioavailability. *J. Nutr. Biochem.* 20, 494–502, <https://doi.org/10.1016/j.j.nutbio.2008.05.006>
- McClements D.J., Li Y., 2010. Review of *in vitro* digestion models for rapid screening of emulsion-based systems. *Food Funct.* 1, 32–59, <https://doi.org/10.1039/c0fo00111b>
- McClements D.J., Xiao H., 2014. Excipient foods: Designing food matrices that improve the oral bioavailability of pharmaceuticals and nutraceuticals. *Food Funct.* 5, 1320–1333, <https://doi.org/10.1039/c4fo00100a>
- Michalski M.C., 2009. Specific molecular and colloidal structures of milk fat affecting lipolysis, absorption and postprandial lipemia. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* 111, 413–431, <https://doi.org/10.1002/ejlt.200800254>
- Minekus M., Alvinger M., Alvito P., Ballance S., Bohn T., Bourlieu C., Carrière F., Boutrou R., Corredig M., Dupont D. i in., 2014. A standardised static *in vitro* digestion method suitable for food—an international consensus. *Food Funct.* 5, 1113–1124, <https://doi.org/10.1039/c3fo60702j>
- Mohsenabadi N., Rajaei A., Tabatabaei M., Mohsenifar A., 2018. Physical and antimicrobial properties of starch-carboxy methyl cellulose film containing rosemary essential oils encapsulated in chitosan nanogel. *Int. J. Biol. Macromol.* 112, 148–155, <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.01.034>
- Mulet-Cabero A.-I., Egger L., Portmann R., M'énard O., Marze S., Minekus M., Mackie, A., 2020. A standardised semi-dynamic *in vitro* digestion method suitable for food – an international consensus. *Food Funct.* 11, 1702–1720, <https://doi.org/10.1039/C9FO01293A>
- Muttakin S., Moxon T.E., Gouseti O., 2019. *In vivo*, *in vitro*, and in silico studies of the GI tract. W: Interdisciplinary approaches to food digestion (pp. 29–67). Springer, Cham.
- Neumann M., Goderska K., Grajek K., Grajek W., 2006. Modele przewodzenia pokarmowego *in vitro* do badań nad biodostępnością składników odżywczych. *Żywn. Nauka Technol. Jakość* 13, 30–45.
- Pearce S.C., Coia H.G., Karl J.P., Pantoja-Feliciano I.G., Zachos N.C., Racicot K., 2018. Intestinal *in vitro* and *ex vivo* models to study host-microbiome interactions and acute stressors. *Front. Physiol.* 9, 1584, <https://doi.org/10.3389/fphys.2018.01584>
- Qin D., Yang X., Gao S., Yao J., McClements D.J., 2017. Influence of dietary fibers on lipid digestion: Comparison of single-stage and multiple-stage gastrointestinal models. *Food Hydrocoll.* 69, 382–392, <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2017.03.004>
- Rein J.M., Renouf M., Cruz-Hernandez C., Actis-Goretta L., Thakkar K.S., da Silva Pinto M., 2012. Bioavailability of bioactive food compounds: A challenging journey to bioefficacy. *Br. J. Clin. Pharmacol.* 75, 588–602, <https://doi.org/10.1111/j.1365-2125.2012.04425.x>
- Rezaei A., Tavanai H., Nasirpour A., 2016. Fabrication of electrospun almond gum/PVA nanofibers as a thermostable delivery system for vanillin. *Int. J. Biol. Macromol.* 91, 536–543, <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2016.06.005>
- Salvia-Trujillo L., Verkempinck S.H.E., Sun L., Van Loey A.M., Grauwet T., Hendrickx M.E., 2017. Lipid digestion, micelle formation and carotenoid bioaccessibility kinetics: Influence of emulsion droplet size. *Food Chem.*, 229, 653–662, <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.02.146>
- Seraglio S.K.T., Schulz M., Gonzaga L.V., Fett R., Costa, A.C.O., 2021. Current status of the gastrointestinal digestion effects on honey: A comprehensive review. *Food Chem.* 129807, <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.129807>
- Shani-Levi C., Alvito P., Andrés A., Assunção R., Barberá R., Blanquet-Diot S., Bourlieu C., Brodkorb A., Cilla A., Deglaire A., Denis S., Dupont D., Heredia A., Karakaya S., Giosafatto C.V.L., Mariniello L., Ménard C.M.O., Lesmes U., 2017. Extending *in vitro* digestion models to specific human populations: Perspectives, practical tools and bio-relevant information. *Trends Food Sci. Technol.* 60, 52–63, <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2016.10.017>

- Singh G., Pai R.S., 2015. Trans-resveratrol self-nano-emulsifying drug delivery system (SNEDDS) with enhanced bioavailability potential: Optimization, pharmacokinetics and *in situ* single pass intestinal perfusion (SPIP) studies. *Drug Deliv.* 22, 522–530, <https://doi.org/10.3109/10717544.2014.885616>
- Soleimanifar M., Niazmand R., Jafari S.M., 2019. Evaluation of oxidative stability, fatty acid profile, and antioxidant properties of black cumin seed oil and extract. *J. Food Meas. Charact.* 13, 383–389, <https://doi.org/10.1007/s11694-018-9953-7>
- Sotelo-Boyas M.E., Correa-Pacheco Z.N., Bautista-Banos S., Corona-Rangel M.L., 2017. Physicochemical characterization of chitosan nanoparticles and nanocapsules incorporated with lime essential oil and their antibacterial activity against foodborne pathogens. *LWT Food Sci. Technol.* 77, 15–20. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2016.11.022>
- Świdorski F. (red.), 2018. Żywność wygodna i żywność funkcjonalna. PWN, Warszawa.
- Taghvaei M., Jafari S.M., 2015. Application and stability of natural antioxidants in edible oils in order to substitute synthetic additives. *J. Food Sci. Technol.* 52, 1272–1282, <https://doi.org/10.1007/s13197-013-1080-1>
- Thakur N., Raigond P., Singh Y., Mishra T., Singh B., Lal, M. K., Dutt S., 2020. Recent updates on bioaccessibility of phytonutrients. *Trends Food Sci. Technol.* 97, 366–380, <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.01.019>
- Tan C., Xie J., Zhang X., Cai J., Xia S., 2016. Polysaccharide-based nanoparticles by chitosan and gum Arabic polyelectrolyte complexation as carriers for curcumin. *Food Hydrocoll.* 57, 236–245, <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2016.01.021>
- Vahedikia N., Garavand F., Tajeddin B., Cacciotti I., Jafari S.M., Omid T., Zahedi Z., 2019. Biodegradable zein film composites reinforced with chitosan nanoparticles and cinnamon essential oil: Physical, mechanical, structural and antimicrobial attributes. *Coll. Surf. B: Biointerfaces*, 177, 25–32, <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2019.01.045>
- Wen P., Zhu D.H., Wu H., Zong M.H., Jing Y.R., Han S.Y., 2016. Encapsulation of cinnamon essential oil in electrospun nanofibrous film for active food packaging. *Food Control* 59, 366–376, <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2015.06.005>
- Wiater M., Hoc D., Paszkowska J., Garbacz G., 2020. Hydrodynamika i naprężenia mechaniczne działające na postać leku w farmakopealnym i niekompendialnym badaniu uwalniania. *Farm. Pol.* 76(4), 210–221.
- Winuprasith T., Khomein P., Mitbumrung W., Suphantharika M., Nitithamyong A., McClements D.J., 2018. Encapsulation of vitamin D3 in pickering emulsions stabilized by nanofibrillated mangosteen cellulose: Impact on *in vitro* digestion and bioaccessibility. *Food Hydrocoll.* 83, 153–164. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2018.04.047>
- Wojtunik-Kulesza K., Oniszczuk A., Oniszczuk T., Combrzyński M., Nowakowska D., Matwijczuk A., 2020. Influence of *in vitro* digestion on composition, bioaccessibility and antioxidant activity of food polyphenols-A non-systematic review. *Nutrients* 12, 1401, <https://doi.org/10.3390/nu12051401>
- Wood R.J., 2005. Bioavailability: Definition, general aspects and fortificants. *Encyclopedia of human nutrition* (2nd ed.). Oxford: Elsevier Ltd.
- Xu F., Weng B., Gilkerson R., Materon L.A., Lozano K., 2015. Development of tannic acid/chitosan/pullulan composite nanofibers from aqueous solution for potential applications as wound dressing. *Carbohydr. Polym.* 115, 16–24, <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2014.08.081>
- Xu Z., Jin J., Zheng M., Zheng Y., Xu X., Liu Y., Wang X., 2016. Co-surfactant free microemulsions: Preparation, characterization and stability evaluation for food application. *Food Chem.* 204, 194–200, <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.01.073>
- Yadav A., Sunkaria A., Singhal N., Sandhir R., 2018. Resveratrol loaded solid lipid nanoparticles attenuate mitochondrial oxidative stress in vascular dementia by activating Nrf2/HO-1 pathway. *Neurochem. Int.* 112, 239–254, <https://doi.org/10.1016/j.neuint.2017.08.001>
- Zakrzewski S.S., Richter J.F., Krug S.M., Jebautzke B., Lee I.F.M., Rieger J., Sachtleben M., Bondzio A., Schulzke J.D., Fromm M., i in., 2013. Improved cell line IPEC-J2, characterized as a model for porcine jejunal epithelium. *PLoS One* 8, 79643, <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0079643>

## Nowoczesne nietermiczne metody utrwalania żywności

### Wstęp

Utrwalanie żywności jest jednym z zasadniczych procesów stosowanych w przemyśle spożywczym, który pozwala na zahamowanie lub ograniczenie niekorzystnych zmian fizycznych, enzymatycznych, chemicznych oraz biologicznych wywołanych działalnością drobnoustrojów. Metody utrwalania można podzielić na tradycyjne, wśród których wyróżnia się: fizyczne, chemiczne i biologiczne, a także niekonwencjonalne. Do najstarszych i powszechnie stosowanych należą metody termiczne: mikrofałe, ogrzewanie indukcyjne, chłodzenie, zamrażanie, suszenie, pasteryzacja i sterylizacja [Chizoba Ekezie i in. 2017, Bovi i in. 2019, Hou i in. 2019, Alves Filho i in. 2020]. Techniki te mogą wpływać na jakość i bezpieczeństwo produktów oraz powodować utratę właściwości odżywczych, fizykochemicznych, reologicznych i sensorycznych [Petruzzi i in. 2017, Soares i in. 2017]. Technologie niekonwencjonalne, nietermiczne, takie jak światło UV, pulsacyjne pole elektryczne (PEF), ultradźwięki, nadkrytyczny ditlenek węgla, pulsacyjne promieniowanie rentgenowskie, technologia membranowa, ozon, plazma i wysokie ciśnienie hydrostatyczne (HPP) to technologie, w których nie jest stosowane ciepło [Almeida i in. 2015]. Stanowią one obiecującą zmianę w scenariuszu przetwarzania żywności, przyczyniając się do lepszego zachowania składników odżywczych i właściwości sensorycznych w porównaniu z metodami termicznymi [Porto i in. 2020]. W dzisiejszych czasach wzrasta tendencja do spożywania świeżych, naturalnych i bezpiecznych produktów spożywczych o wyższej jakości i dłuższym okresie przydatności do spożycia bez użycia chemicznych konserwantów. Zachowanie właściwości organoleptycznych żywności jest kluczowym celem przetwórstwa spożywczego. Z punktu widzenia przemysłu spożywczego istotne jest opracowywanie nowatorskich metod utrwalania i pakowania surowców oraz produktów żywnościowych, które nie tylko pozwolą na zachowanie, ale podwyższą ich walory zdrowotne. Spośród wielu nietermicznych metod utrwalania żywności w niniejszym rozdziale zosta-

ną omówione trzy, ponieważ wydają się spełniać dodatkowe funkcje – technologie plazmowe, ozonowanie i pulsacyjne pole elektromagnetyczne.

## Technologie plazmowe

Nowoczesne technologie plazmowe są stosowane w przemyśle spożywczym i mogą mieć różnorodne formy wykorzystania. Główne cele stosowania to odkażanie produktów żywnościowych, w tym usuwanie patogennych czy zarodnikujących mikroorganizmów, przetwarzanie materiałów opakowaniowych, ale też modyfikacja funkcjonalności surowców spożywczych [Chizoba Ekezie i in. 2017].

Plazma to czwarty, obok ciał stałych, cieczy i gazów, stan skupienia, na który składa się duża liczba zjonizowanych gazów, elektronów, wolnych rodników, jonów w stanie podstawowym lub wzbudzonym o neutralnym ładunku [Pankaj i in. 2018]. Aktywne formy są zdolne do inicjowania reakcji w każdym układzie, ponieważ mają wystarczającą energię do zerwania wiązań kowalencyjnych, odgrywając ważną rolę w inaktywacji drobnoustrojów poprzez uszkodzenie białek, lipidów i kwasów nukleinowych [Gupta i in. 2017]. Plazmę można podzielić na różne kategorie według różnych parametrów, takich jak: gęstość elektronów, ciśnienie, temperatura, jonizacja czy częstotliwość zderzeń. W zależności od temperatury plazma dzieli się na termiczną (kilka tysięcy °C) i nietermiczną (od 30 do 60°C) [Alves Filho i in. 2020, Charoux i in. 2021]. W zależności od ciśnienia plazma dzieli się na niskociśnieniową (< 1 Pa), umiarkowaną (≈ 100 Pa) i atmosferyczną (100 kPa) [Gupta i in. 2017]. Jako gazy można użyć powietrze atmosferyczne, tlen, azot, ditlenek węgla i gazy szlachetne, w tym hel, argon, a także kombinację różnych gazów [Zhao i in. 2019].

Reaktywne formy tlenu (ROS), takie jak nadtlenek wodoru (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), ozon (O<sub>3</sub>), anion ponadtlenkowy (O<sub>2</sub>•), rodniki hydroksylowe (•OH), tlen singletowy (<sup>1</sup>O<sub>2</sub>), alkoksyl (RO•), nadtlenek (ROO•), hydroperoksyl (HO<sub>2</sub>•) i rodnik anionu węglanowego (CO<sup>•</sup> <sup>3-</sup>), reaktywne formy azotu (RNS), takie jak wzbudzone cząsteczki N<sub>2</sub> i N<sub>2</sub>O oraz inne formy tlenków azotu (NO, NO<sub>2</sub>, N<sub>2</sub>O<sub>4</sub> i N<sub>2</sub>O<sub>5</sub>), jony i naładowane cząstki, które są wytwarzane przez plazmę, działają jak bardzo silne utleniacze i wpływają na składniki żywności, sprzyjając różnym reakcjom chemicznym i powodując zmiany w składzie żywności [Feizollahi i in. 2020, Puligundla i in. 2020]. Zimna plazma, czyli plazma nietermiczna czy niskotemperaturowa, cieszy się dużym zainteresowaniem w technologii przetwarzania żywności. Wykazuje silne działanie przeciwdrobnoustrojowe na główne mikroorganizmy chorobotwórcze, takie jak *Escherichia coli* [Bermúdez-Aguirre i in. 2013], *Salmonella typhimurium* [Fernández i in. 2013] i *Listeria monocytogenes* [Ukuku i in. 2019]. Zimną plazmę można również stosować do eliminacji mykotoksyn [Agriopoulou i in. 2020, Puligundla i in. 2020], do odkażania zarówno żywności, jak i opakowań do żywności [Pankaj i in. 2014] oraz do inaktywacji enzymów [Misra i in. 2016]. Skład żywności pozostaje stabilny w trak-



cie obróbki i po obróbce zimną plazmą, która jest stosunkowo niedroga pod względem wymaganej energii [Gupta i in. 2017]. Zimna plazma pod ciśnieniem atmosferycznym (CAPP) indukowana dielektrycznym wyładowaniem barierowym (DBD) ma wiele zastosowań przemysłowych [Porto i in. 2020]. CAPP jest stosowana jako alternatywna metoda dezynfekcji żywności i może być stosowana w celu poprawy jakości mikrobiologicznej i zwiększenia bezpieczeństwa żywności [Bovi i in. 2019]. Działa w łagodnych temperaturach, przy relatywnie krótkim czasie prowadzenia procesu, niskich kosztach eksploatacji oraz niewielkim wpływie na środowisko ze względu na ograniczone zapotrzebowanie na energię i brak wytwarzania szkodliwych pozostałości, zapewniając przy tym wysoką wydajność z poziomami inaktywacji powyżej 5–7 log<sub>10</sub> dla wielu mikroorganizmów [Corradini 2020].

W przetwórstwie spożywczym plazma może znaleźć zastosowanie do poprawy jakości mikrobiologicznej i zwiększenia bezpieczeństwa świeżych owoców i warzyw (tab. 1), np. jagód [Bovi i in. 2019], borówek [Lacombe i in. 2015, Sarangapani i in. 2017].

Mahnot i in. [2020] ocenili aspekty mikrobiologiczne i jakościowe do odkażania w opakowaniach marchwi. Obróbka plazmowa była skuteczna w redukcji naturalnej mikroflory marchwi, zaobserwowano zmniejszenie populacji zarówno całkowitej populacji mikroorganizmów tlenowych, jak i drożdży i pleśni o 2 log<sub>10</sub> jtk/g. Ponadto zmiany pH, koloru, tekstury i całkowitej zawartości karotenoidów marchwi traktowanych zimną plazmą były niewielkie. Lacombe i in. [2015] przeprowadzili badanie nad inaktywacją bakterii tlenowych na borówkach i wpływie obróbki zimną plazmą na cechy jakościowe. Uzyskane wyniki wykazały, że zastosowanie atmosferycznej zimnej plazmy istotnie zmniejszyło całkowitą liczbę bakterii tlenowych, jednak obserwowano istotne zmniejszenie zawartości antocyjanów. Inni autorzy [Ramazzina i in. 2015] wskazali na spadek zawartości karotenoidów w owocach kiwi po poddaniu ich działaniu plazmy. W innym badaniu oceniono główne parametry jakościowe i metaboliczne, takie jak aktywność czy oddychanie obranych i pokrojonych jabłek [Tappi i in. 2014]. Wyniki dotyczące brązowienia enzymatycznego wskazują na liniowe zmniejszenie aktywności polifenolooksydaz (PPO) wraz z wydłużaniem czasu obróbki (do około 42%). Dowodzi to, że technika ta może być stosowana w przetwórstwie w celu zahamowania brązowienia ciętych owoców. Soki to kolejna kategoria produktów spożywczych, do których plazma może mieć zastosowanie. Krytycznym krokiem w ich przetwórstwie jest pasteryzacja, najszerzej stosowana technika skutecznej inaktywacji mikroorganizmów wegetatywnych i enzymów, stosowana w celu przedłużenia okresu przydatności do spożycia. Obróbka plazmowa może być stosowana alternatywnie w porównaniu z tradycyjną pasteryzacją termiczną. Garofulic i in. [2015] zbadali wpływ obróbki plazmą gazową na zawartość antocyjanów i kwasów fenolowych w soku wiśniowym i stwierdzili, że krótkie traktowanie (3 min) skutkuje najwyższym stężeniem tych związków. Wzrost o 33% całkowitej zawartości fenoli w soku z granatów zaobserwowali też inni autorzy [Herceg i in. 2016]. W kilku badaniach wykazano, że w celu inaktywacji patogenów skutecznie zastosowano obróbkę

Tabela 1. Najnowsze badania nad zastosowaniem plazmy w przetwórstwie żywności

Produkt	Przedmiot badania	Proces	Efekty	Źródło
Borówki	antocyjany, związki fenolowe, flawonoidy	zimna plazma indukowana dielektrycznym wyładowaniem barierowym, w opakowaniu	zmniejszenie zawartości antocyjanów, zwiększenie zawartości związków fenolowych i flawonoidów	Sarangapani i in. 2017
Głożyna pospolita/jujuba	procyjanidyny, flawonoidy związki fenolowe	zimna plazma, suszenie	poprawa szybkości suszenia, zwiększenie zawartości procyjanidyn, flawonoidów i fenoli, ograniczenie produkcji 5-hydroksymetylofurfuralu, zahamowanie degradacji antyoksydantów	Bao i in. 2021
Kiwi	kwas askorbinowy, polifenole, barwniki	atmosferyczna plazma indukowana dielektrycznym wyładowaniem barierowym (DBD)	natychmiastowa utrata pigmentu i jakości wizualnej, brak znaczących zmian zawartości antyoksydantów (kwasu askorbinowego i polifenoli)	Ramazzina i in. 2015
Krojone jabłka i ziemniaki	oksydaza polifenolowa (PPO), peroksydaza (POD)	Plazma	redukcja oksydazy polifenolowej (PPO) i peroksydazy (POD)	Bußler i in. 2017, 2020
Mandarynki	kwas askorbinowy, związki fenolowe, aktywność antyoksydacyjna	Zimna plazma indukowana dielektrycznym wyładowaniem barierowym, w opakowaniu	wydłużenie trwałości mandarynek w plastikowych opakowaniach poprzez zahamowanie wzrostu <i>Penicillium digitatum</i> , przy jednoczesnej minimalizacji zmian jakości podczas przechowywania	Bang i in. 2020
Orzechy włoskie	związki fenolowe	strumień plazmy	wzrost całkowitej zawartości fenoli po 15 i 30 dniach przechowywania (4°C)	Amini i Ghoranneviss 2016
Pomidory	związki fenolowe, pojemność antyoksydacyjna	zimna plazma atmosferyczna o wysokim napięciu (HVACP) z różnymi gazami (powietrze, Ar, He, N <sub>2</sub> )	zwiększenie wydajności ekstrakcji związków fenolowych, zwiększenie pojemności antyoksydacyjnej ekstraktów	Bao i in. 2020
Salata Radicchio	aktywność antyoksydacyjna	zimna plazma indukowana dielektrycznym wyładowaniem barierowym	brak zmian w aktywności przeciwutleniającej	Bermudez-Aguirre 2020
Sok camu-camu	kwas askorbinowy, monomeryczne antocyjany	zimna plazma	poprawa stężenia związków bioaktywnych (kwasu askorbinowego i antocyjanów monomerycznych), inaktywacja enzymów degradacyjnych, negatywny wpływ na barwę	Castro i in. 2020
Sok z owoców nanercza ( <i>Anacardium occidentale</i> L.)	związki fenolowe, flawonoidy, witamina C	system Benchtop plazma	wzrost zawartości polifenoli i flawonoidów oraz witaminy C	Rodríguez i in. 2017
Woda kokosowa	peroksydaza (POD), związki fenolowe	zimna plazma atmosferyczna (ACP)	inaktywacja peroksydazy POD (enzymatyczna redukcja), redukcja niektórych związków fenolowych, zwiększona zawartość innych, brak wpływu na zawartość rozpuszczalnych substancji stałych, kwasowość i barwę	Porto i in. 2020

plazmową w ziarnach i mąkach. Lee i in. [2016] badali obróbkę zimną plazmą w celu poprawy właściwości mikrobiologicznych i fizykochemicznych brązowego ryżu. Po procesie zaobserwowano istotnie większe mikrobiologiczne bezpieczeństwo brązowego ryżu przeciwko mikroorganizmom *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis* i *E. coli* O157: H7, z niewielkimi zmianami jego jakości fizykochemicznej. Niektóre źródła wskazują na poprawę właściwości strukturalnych i funkcjonalnych mąki [Misra i in. 2015, Bahrami i in. 2016]. Zastosowanie plazmy niskotemperaturowej zmniejszyło całkowitą ilość wolnych kwasów tłuszczowych i fosfolipidów, co udowadnia jej potencjał jako narzędzia do modyfikowania funkcjonalności mąki. Za pomocą tej techniki możliwa jest też poprawa jakości nasion i kiełkowania oraz profilu antyoksydacyjnego bez powodowania uszkodzeń oksydacyjnych nasion [Charoux i in. 2021].

## Ozonowanie

Ozon jest silnym utleniaczem o wysokiej reaktywności i wysokim potencjale oksydo-redukcyjnym. Może inaktywować wirusy, bakterie, grzyby i mykotoksyny skuteczniej niż chlor [Agriopoulou i in. 2016]. Mechanizm niszczenia drobnoustrojów obejmuje utlenianie grup sulfydrylowych, aminokwasów, peptydów i białek do krótszych peptydów, a także utlenianie wielonienasyconych kwasów tłuszczowych do nadtlenków kwasowych. Prowadzi to do uszkodzenia błon komórkowych komórek i wycieku zawartości komórkowej, a utlenianie białek wewnątrzkomórkowych do śmierci komórki [Nath i in. 2014]. Ozon niszczy skutecznie bakterie Gram-ujemne i Gram-dodatnie. Obecność ozonu hamuje również powstawanie pleśni i niszczy formy przetrwalnikowe bakterii (np. *Bacillus* i *Clostridium*) [Ziarno i Zareba 2015]. Dlatego ozon jest stosowany jako środek do dezynfekcji sprzętu lub powierzchni, które mają kontakt z żywnością. Gazowy ozon zmniejsza liczbę mikroorganizmów o około 2,5–7,5 cykli logarytmicznych [Piechowiak i in. 2019]. Ozonowanie to proces dezynfekcji produktów ozonem, może być stosowany we wszystkich gałęziach przemysłu do czyszczenia sprzętu lub opakowań, a także do przedłużania przydatności do spożycia żywności. Istnieją dwa główne rodzaje ozonowania: w fazie wodnej i gazowej. Metoda ozonowania wody polega na wytworzeniu wodnego roztworu ozonu o określonym stężeniu. Rozwiązanie to uzyskuje się, wprowadzając do wody gaz wytworzony przez ozonator. Ponieważ ozon o wysokim potencjale oksydacyjno-redukcyjnym jest rozpuszczalny w wodzie, roztwór ten można stosować jako środek dezynfekujący. Główną zaletą tej metody jest to, że w temperaturze otoczenia woda ta ma podobną aktywność jak woda gorąca. Inną formą jest ozonowanie gazowe, czyli bezpośrednio wystawienie produktów na działanie ozonu wytwarzanego przez generator. Surowce umieszczane są w zmodyfikowanej atmosferze lub okresowo w strumieniu ozonu o określonym stężeniu [Balawejder i Piechowiak 2019]. Ozon jest najczęściej używany na dwa sposoby, które

mogą dawać bardzo różne rezultaty: długotrwałe przechowywanie w atmosferze o niskim stężeniu ozonu lub pojedynczy proces przy użyciu ozonu w dużej dawce. Skuteczność ozonowania zależy od wielu czynników, wśród których najważniejszymi są: wartość pH, wilgotność względna, temperatura oraz ilość związków pochłaniających ozon [Bechlin i in. 2020]. Czynniki te mogą przede wszystkim wpływać na rozpuszczalność, stabilność i reaktywność ozonu. Wartość pH wpływa głównie na stabilność, która maleje wraz ze wzrostem zasadowości środowiska. Ponadto wraz ze wzrostem wilgotności względnej otoczenia obserwuje się poprawę przeciwmikrobiologicznego działania ozonu. Podwyższenie temperatury procesu pogarsza stabilność i rozpuszczalność ozonu, ale poprawia jego reaktywność. Obecność substancji pochłaniających ozon zmniejsza głównie jego reaktywność, wywołując różne reakcje chemiczne [Laszlo i Jenó 2016]. Aby uzyskać najlepsze wyniki podczas ozonowania, wszystkie te czynniki powinny być dokładnie kontrolowane. Ze względu na dużą toksyczność ozonu podczas ozonowania konieczne jest stosowanie układu zamkniętego.

Obecnie powszechnie jest stosowanie ozonu jako środka dezynfekującego w zakresie przechowywania produktów w atmosferze bogatej w ozon, mycia surowców wodą ozonowaną, czy też bezpośredniego dodawania ozonu do produktów płynnych. Woda ozonowana jest coraz częściej wykorzystywana w przetwórstwie owoców i warzyw, głównie do oczyszczania świeżych surowców i przedłużania ich przydatności do spożycia. Ozon jako inhibitor etylenu spowalnia też procesy starzenia roślin [Cullen i Norton 2012]. Metoda ta daje ogromne możliwości wykorzystania ozonu w przetwórstwie owoców miękkich, w tym malin, truskawek, borówek i porzeczek, ponieważ opóźnia procesy ich zmiękczenia. Ozon w postaci gazowej można również stosować podczas przechowywania malin w warunkach niechłodzonych. Głównym zagrożeniem jest zakażenie pleśnią *Botrytis cinerea*. Polscy badacze stwierdzili, że regularne narażenie na ozon w stężeniu od 8 do 10 ppm co 12 godz. pozwala wydłużyć okres przydatności świeżych owoców nawet do 3 dni [Piechowiak i in. 2019]. Ozon może być również używany w przetwórstwie owoców i warzyw w celu usuwania pozostałości środków ochrony roślin. Przykładowe wyniki wykazały 38% redukcję pozostałości boskalidu w malinach, 58% redukcję tiuramu [Balawejder i Piechowiak 2019], 59% mankozebu w porzeczkach [Antos i in. 2013], czy pozostałości fungicydów w jabłkach [Antos i in. 2018]. Stosowanie wodnego ozonu zapewnia skuteczną strategię usuwania pozostałości pestycydów również z warzyw. Zastosowanie wody ozonowanej do mycia kapusty pak choi przez 15 min może spowodować degradację ~ 40–60% pozostałości malationu i karbosulfanu, bez wpływu na sensoryczną jakość [Wang i in. 2021]. Mechanizm degradacji pozostałości pestycydów opiera się m.in. na fotolizie, fotokatalizie oraz reakcjach utleniania i redukcji. Różne formy utleniania chemicznego są podstawą usuwania pozostałości pestycydów, a także zmniejszania ryzyka skażenia mikrobiologicznego żywności [Velioglu i in. 2018]. Ozon może też skutecznie usuwać wtórne produkty metabolizmu grzybów pleśniowych – mykotok-

syny i zapobiega ich ponownemu tworzeniu w procesie przechowywania [Afsah-Hejri i in. 2020].

Ozonowanie jest coraz częściej stosowane także jako alternatywna, nowoczesna metoda wywoływania stresu i zwiększania prozdrowotnego potencjału surowców roślinnych. Ozon może zwiększyć odporność rośliny na stres poprzez stymulację układu neutralizacji reaktywnych form tlenu w komórkach lub zwiększenie syntezy enzymów antyoksydacyjnych. Odpowiedź obronna roślin zależy od współzależności między wieloma złożonymi szlakami sygnałowymi i sygnałami metabolicznymi [Ludwikow i Sadowski 2008]. Wrażliwość owoców i warzyw na ozon jest różna w zależności od rodzaju, gatunku i odmiany [Segade i in. 2019]. Efekt ten zależy również od formy i metody ozonowania oraz zastosowanej dawki ozonu. Wyższe stężenia i dłuższe czasy kontaktu mogą powodować utlenianie związków biologicznie czynnych i zwiększony stres oksydacyjny, który pogarsza jakość surowców roślinnych [Sachadyn-Król i Agriopoulou 2020]. Owoce i warzywa podczas przechowywania narażone są na utratę dużych ilości związków biologicznie czynnych, głównie polifenoli i przeciwutleniaczy. Przypuszcza się, że ozon może być czynnikiem abiotycznym, który indukuje mechanizmy obronne roślin. Efektem tych interakcji może być wzrost zawartości wtórnych metabolitów i poprawa związanych z tym prozdrowotnych właściwości produktów roślinnych. Ozon może oddziaływać na związki zawarte w roślinach w dwojaki sposób: poprzez bezpośrednią z nimi reakcję lub reakcję rodników powstających podczas jego rozkładu. Cząsteczki ozonu mogą przedstawiać się do roślin przez otwarte aparaty szparkowe, a następnie reagować z elementami apoplastu w postaci reaktywnych form tlenu (ROS) – głównie rodników hydroksylowych, hydroperoksydowych i nadtlenkowych [Karaca i Velioglu 2014]. W wyniku interakcji z ozonem dochodzi do uszkodzenia składników kanałów wapniowych i jonowych błony komórkowej. To niszczenie prawie natychmiast prowadzi do produkcji wolnych rodników i uwolnienia niektórych enzymów, w tym peroksydazy (POD) i dysmutazy nadtlenkowej (SOD) [Oksanen i in. 2004, Sachadyn-Król i in. 2016]. Stan ten nazywany jest stresem oksydacyjnym i może powodować wiele zmian fizjologicznych u roślin. Stosowanie ozonu może indukować odporność roślin na stres poprzez pobudzenie układu wygaszania wolnych rodników tlenowych, a tym samym nasila syntezę enzymów antyoksydacyjnych [Sachadyn-Król i Agriopoulou 2020]. W produktach pochodzenia roślinnego ozonowanie przeprowadza się na dwa sposoby: przed zbiorami i po zbiorach. Obróbka przed zbiorami jest kosztowna i trudna technologicznie, natomiast pozbiorcza obróbka wymaga odpowiedniego doboru formy, stężenia i czasu ekspozycji ozonu w zależności nie tylko od rodzaju i ilości produktu spożywczego, ale także od wyjściowej jakości każdej partii surowca [Botondi i in. 2015].

Wpływ ozonowania na jakość żywności jest różny. Przeprowadzono wiele badań nad wpływem ozonu na zawartość polifenoli i innych związków bioaktywnych, niestety ich wyniki są niejednoznaczne (tab. 2).

Tabela 2. Najnowsze badania nad zastosowaniem ozonowania w przetwórstwie żywności

Produkt	Przedmiot badania	Szczegóły procesu	Efekty	Źródło
Borówka amerykańska	dysmutaza nadadtlenkowa, peroksydaza glutationowa i liza amoniakalna fenylalaniny, poziom anionorodnika nadadtlenkowego i nadttlenku wodoru	15 ppm, 30 min co 12 godz. przez 28 dni	wyższa aktywność enzymów antyoksydacyjnych, znacznie niższy poziom anionorodnika nadadtlenkowego i nadttlenku wodoru	Piechowiak i in. 2020
Kiwi	związki fenolowe, flawonoidy, aktywność przeciwutleniająca	300 ppb, 60 dni	zwiększenie aktywności antyoksydacyjnej przy braku zmian zawartości flawonoidów i zmniejszeniu stężenia związków fenolowych	Goffi i in. 2019
Liście rukoli	związki fenolowe, aktywność przeciwutleniająca, zawartość chlorofili, karotenoidów i kwasu askorbinowego	1, 5 i 10 ppm, 10 min	brak zmian	Gutiérrez i in. 2018
Maliny	dehydrogenaza bursztynianowa, oksydaza cytochromu C i H <sup>+</sup> -ATPaza, aktywność antyoksydacyjna	8–10 mg/l, 30 min co 12 godz. przez 3 doby	zwiększenie aktywności enzymów biorących udział w fosforylacji oksydacyjnej, wyższa aktywność antyoksydacyjna	Piechowiak i in. 2021
Owoce morwy czarnej	kwas askorbinowy, antocyjany	0,64 i 5 mg/m <sup>3</sup> , 6 dni	zwiększenie zawartości kwasu askorbinowego, brak zmian w zawartości antocyjanów	Tabakoglu i Karaca 2018
Pomidory winogronowe	związki fenolowe, likopen, witamina C	3,43 mg/l i 6,85 mg/l, 2 i 4 godz.	zmniejszenie zawartości związków fenolowych, likopenu i witaminy C	Wang i in. 2019
Truskawki	utrata masy, właściwości mechaniczne i strukturalne	płukanie wodą ozonowaną (3,5 mg/l; 5–15 min)	ubytek masy w owocach traktowanych przez 15 min był wyższy, bariera naskórkowa truskawek traktowanych przez 5 min była grubsza i bardziej gęsta elektronowo	Contigiani i in. 2018
Ziarna pszenicy	skład mąki, właściwości ciasta i skrobi	6 g/godz., 1,5 godz.	brak wpływu na skład mielonych mąk, zwiększenie wytrzymałości ciasta i szczytowej lepkości mąki, zwiększenie zawartości nierozpuszczalnych polimerów białkowych	Zhang i in. 2021

Można wnioskować, że sposób podawania ozonu jest bardzo istotny. Długotrwała ekspozycja owoców na ozon może znacząco obniżyć zawartość polifenoli, a krótkotrwałe ozonowanie pomaga zachować te metabolity [Botondi i in. 2015]. Wpływ ozonowania na przeciwutleniacze wiąże się również z ich lokalizacją w komórce, gdyż ozon stymuluje głównie przeciwutleniacze znajdujące się w apoplazmie [Karaca i Velioglu 2014]. Ali i in. [2014] stwierdzili, że stosowanie wysokiego stężenia ozonu może znacząco obniżyć zawartość przeciwutleniaczy. Zhang i in. [2011] zaobserwowali z kolei, że stosowanie niskich dawek ozonu zmniejsza utratę związków przeciwutleniających w przechowywanych

owocach, a w niektórych przypadkach nawet je zwiększa w stosunku do wartości początkowej. Wzrost zawartości flawonoidów i kwasów fenolowych może wynikać z modyfikacji ściany komórkowej roślin na skutek kontaktu z ozonem. Uszkodzenie struktury komórkowej uwalnia niektóre polifenole [Najda i in. 2018]. Wzrost ilości tych metabolitów może być również związany ze zmianą aktywności enzymów wywołanych działaniem ozonu, takich jak oksydaza polifenolowa (PPO) i peroksydaza [Sachadyn-Król i in. 2016, Zhu i in. 2019]. Dymutaza ponadtlenkowa, peroksydaza askorbinianowa (APX) i katalaza (CAT) są również enzymami uważanymi za główne mechanizmy odpowiedzi wywołanej stresem wywołanym przez ozon [Gutiérrez i in. 2018]. W badaniu Zhu i in. [2019], ekspresja POD gwałtownie wzrosła podczas ozonowania podczas przechowywania, co sprzyja ochronie przed uszkodzeniem błony komórkowej. Spadek zawartości związków fenolowych wynika głównie z potencjału utleniającego ozonu [Sachadyn-Król i Agriopoulou 2020]. Ich degradacja jest wynikiem różnych reakcji chemicznych, w tym substytucji nukleofilowej, prowadzących do utleniania związków organicznych oraz tworzenia związków hydroksylowych i chinonowych, gdyż powstawanie związków alifatycznych jest następstwem pęknięcia pierścienia aromatycznego [Asokapandian i in. 2018]. Garcia-Mateos i in. [2019] zauważyli znaczny spadek zawartości metabolitów i związany z tym efekt antyoksydacyjny w ozonowanym soku z owoców pitaya. Według Piechowiaka i in. [2019] degradacja związków polifenolowych podczas przechowywania owoców jest wynikiem reakcji enzymatycznych związanych z aktywnością enzymów oksydoreduktazy. Autorzy argumentują, że ozon może inaktywować enzymy utleniające, a tym samym zmniejszać lub całkowicie ograniczać rozpad polifenoli. Ponadto Barth i in. [1995] zauważyli, że niezależnie od czasu ozonowania aktywność enzymu PPO w przechowywanych owocach jeżyny była zahamowana. Pomimo przeprowadzenia wielu badań na ten temat nie ma jasnych wskazówek co do zdolności ozonu jako elicytora. Potrzebne są dalsze badania dotyczące porównania różnych metod aplikacji ozonu w ramach tego samego eksperymentu wraz z próbą wyjaśnienia mechanizmów. Z praktycznego punktu widzenia bardzo pożądane byłyby również szeroko zakrojone badania nad matematycznym modelowaniem różnych parametrów ozonowania i ich współzależności [Sachadyn-Król i Agriopoulou 2020].

## **Pulsacyjne pole elektryczne**

Pulsacyjne pole elektryczne (ang. pulsed electric fields, PEF) stosuje się w postaci krótkich impulsów o dużym natężeniu pola elektrycznego rzędu 10–80 kV/cm i czasem trwania od mikro- do milisekund. Na produkt działa siła elektrycznego, która jest odpowiedzialna za rozpad błony komórkowej mikroorganizmów i ich inaktywację [Syed i in. 2017]. Dzięki tak krótkotrwałym impulsom temperatura żywności nie wzrasta znacząco, przez co wpływ PEF na zawartość witamin w żywności jest ograniczony w porównaniu z procesami termicznymi. Skuteczne

próby stosowania technologii PEF podejmowano dotychczas dla produktów płynnych, takich jak mleko i produkty mleczne, produkty jajeczne i soki owocowe [Bermúdez-Aguirre i in. 2009, Sitzmann i in. 2016]. Obróbka ta, uważana za nie-termiczną, dzięki efektowi omowego ogrzewania (Joule'a) może jednak powodować wzrost temperatury przetwarzanego produktu. Na szybkość wytwarzania ciepła ma wpływ przewodność elektryczna produktu spożywczego i zastosowane natężenie pola elektrycznego [Oziębłowski i in. 2016]. Aby ograniczyć wzrost temperatury produktu podczas procesu, należy stosować impulsy o niskiej częstotliwości i krótkim czasie trwania, może to jednak zmniejszać skuteczność działania.

Z badania Timmermans i in. [2014] dotyczącego zanieczyszczeń mikrobiologicznych soku jabłkowego, pomarańczowego i arbużowego wynika, że *S. cerevisiae*, *S. panama* i *E. coli* są wrażliwymi na PEF mikroorganizmami. Obserwowano też zmniejszenie o około 4 jednostki logarytmiczne całkowitej liczby bakterii tlenowych mezofilnych, całkowitej liczby pleśni i drożdży, całkowitej liczby Enterobacteriaceae i *E. coli* O157:H7 w napoju na bazie soku z marchwi [Akin i Evrendilek 2009]. Inaktywacja drobnoustrojów wzrastała wraz ze wzrostem natężenia pola elektrycznego, czasu zabiegu i temperatury. Zmniejszenie całkowitej liczby drożdży i pleśni o 3,7 log cykli uzyskano przez zastosowanie 390 s 30 kV/cm w 15°C. Komórki drożdży i pleśni były mniej odporne niż komórki bakterii [Zhang i in. 2007]. PEF może degradować też produkty metabolizmu pleśni – mykotoksyny. Dla przykładu, w jednym z nowszych badań uzyskano redukcję aflatoksyny B2 o 72% i G1 o 84% w soku z winogron [Pallarés i in. 2021]. Wydaje się, że pulsacyjne pole elektryczne nie ma wpływu na endospory, chociaż niektóre publikacje opisują pewien poziom inaktywacji zarodników, osiągnięty w przypadku zastosowania bardzo wysokiego natężenia czy w kombinacji np. ze zwiększoną temperaturą [Reineke i in. 2015]. Zarodniki wykazują wyższą odporność na PEF niż komórki wegetatywne ze względu na ich małe rozmiary, niską przepuszczalność, odwodnienie i mineralizację. Badania nad mechanizmami działania pulsacyjnego pola elektrycznego wskazują na różne możliwości. Najszerzej akceptowana teoria dotyczy indukcji pola elektrycznego przyłożonego do błony lipidowej, które prowadzi do lokalnych niestabilności i ostatecznie do powstania porów w błonie (elektroporacja). Dzięki temu efektowi zwiększa się przepuszczalność błony komórkowej (elektropermeabilizacja) i w zależności od zastosowanego natężenia pola elektrycznego prowadzi albo do śmierci komórki (nieodwracalna, całkowita inaktywacja) albo do ponownego uszczelnienia błony komórkowej (odwracalna, subletalna lub częściowa inaktywacja) [Timmermans i in. 2019]. Zakłada się, że do wywołania nieodwracalnej elektroporacji błony komórkowej drobnoustrojów wymagane jest co najmniej natężenie pola elektrycznego o wartości 5–10 kV/cm [Jaeger i in. 2016].

Podsumowując przegląd na temat wpływu PEF na wartość odżywczą, Nowosad i in. [2021] wnioskuje, że zabieg PEF można uznać za bezpieczny dla takich związków bioaktywnych, jak witaminy, karotenoidy i polifenole. Może on też wpływać na aktywność wybranych enzymów. Prawdopodobnie odpowiedzialne są za to zarówno efekty elektrochemiczne, jak i termiczne, które powodują zmiany w strukturze i konformacji enzymów prowadzące do ich inaktywacji [Terefe i in. 2013]. Dla przykładu, w soku winogronowym, który jest podatny na działanie wie-



lu enzymów, zabieg PEF nie wpłynął znacząco na właściwości fizykochemiczne i sensoryczne, ale zmniejszył aktywność oksydazy polifenylowej i peroksydazy [Marselle's-Fontanet i Martin-Belloso 2007]. Jak pisze Witrowa-Rajchert [2012], pulsacyjne pole elektryczne można zastosować do wytwarzania żywności o zaprojektowanym składzie i właściwościach. Daje to możliwość wytwarzania produktów o podwyższonej zawartości związków prozdrowotnych oraz kształtowania właściwości sensorycznych produktów, takich jak barwa czy specyficzny smak. Przeprowadzone badania dotyczą głównie produktów roślinnych, zwłaszcza soków (tab. 3).

Tabela 3. Najnowsze badania nad zastosowaniem pulsacyjnego pola elektrycznego w przetwórstwie żywności

Produkt	Przedmiot badania	Szczegóły procesu	Efekty	Źródło
Cebula	związki fenolowe, flawonoidy	100 $\mu$ s, częstotliwość: 1 Hz	wydajność ekstrakcji fenoli i flawonoidów z cebuli została znacznie zwiększona (wzrastała wraz ze wzrostem natężenia pola elektrycznego i czasu obróbki)	Liu i in. 2018
Marchew	związki fenolowe	0,8, 2 i 3,5 kV/cm, 5, 12 i 30 impulsów	wzrost (40%) zawartości fenoli	López-Gámez i in. 2020
Sok ananasowy	całkowita zawartość fenoli, flawonoidów, kwasu askorbinowego i $\beta$ -karotenu	9, 11 i 13 kV/cm, częstotliwość 100 Hz	wszystkie związki bioaktywne uległy nieznacznej redukcji	Yousuf i in. 2020
Sok jabłkowy	witamina C, polifenole	200, 300 i 400 impulsów, 30 kV/cm	brak istotnych zmian	Dziadek i in. 2019
Sok jagodowy	antocyjany, związki fenolowe	1800 Hz, 15 kV/cm	zwiększenie stężenia antocyjanów i związków fenolowych odpowiednio o 10 i 25%	Jin i in. 2017
Sok morelowy	fenole, flawonoidy, lotne związki przeciwutleniające	7 i 14 kV/cm, 1 Hz	znaczny wzrost zawartości fenoli, flawonoidów i przeciwutleniaczy	Rahaman i in. 2020
Sok z borówki	antocyjany, związki fenolowe, aktywność antyoksydacyjna	1,3 i 5 kV/cm, 10 kJ/kg	wyższa całkowita zawartość fenoli (43%), całkowita zawartość antocyjanów (60%) oraz aktywność antyoksydacyjna (31%)	Bobinaite i in. 2015
Sok z czerwonej papryki	witamina C, związki fenolowe, karotenoidy	6–44 impulsów, 0–4 kJ/kg, 1,07 kV/cm, 2 Hz + suszenie rozpyłowe	wyższa zawartość witaminy C i niższa całkowita zawartość fenoli, brak istotnych zmian poziomu karotenoidów	Rybak i in. 2020

Znane są jednak przykłady zastosowań również w technologii mleka. Pasteryzacja PEF mleka pozwala na zachowanie jego wartości odżywczej. Nie wykryto zmian w retencji witamin B1, B2, A, D3 i E w odtłuszczonym i świeżym pełnym mleku krowim (15–35 kV/cm, 12,5–75 ms, 30°C) [Riener i in. 2009]. Bermúdez-Aguirre i in. [2011] wskazują jednak na możliwą niewielką redukcję zawartości tłuszczu w mleku pełnym poddanym działaniu PEF (20–35 kV/cm, 24–60 ms, 20–40°C). Potrzebne są dalsze badania, aby dowiedzieć się, jak PEF wpływa na białka mleka, ponieważ dotychczas opublikowane wyniki są niespójne [Nowosad i in. 2021]. Impulsowe pola elektryczne zastosowano też do wzbogacania mikroorganizmów w jony niezbędne do prawidłowego funkcjonowania organizmu człowieka. Tak przygotowana biomasa komórkowa może potencjalnie być wykorzystana do produkcji żywności funkcjonalnej. Wykorzystanie drożdży lub bakterii jako nośnika biokompleksów może wzbogacić dietę w pierwiastki, takie jak magnez, cynk, wapń czy selen. Badania Pankiewicz i in. [2014, 2017] wykazały, że komórki drożdży poddane PEF mogą skuteczniej akumulować magnez, cynk i wapń ze względu na zjawisko elektroporacji. Autorzy stwierdzili, że bioakumulacja magnezu była 1,5 razy wyższa, cynku – 2 razy, a wapnia nawet 6 razy w porównaniu z kontrolą.

Wykazano, że zastosowanie obróbki PEF pozwala na zwiększenie wydajności ekstrakcji związków bioaktywnych [Loginova i in. 2011]. Wybrane pierwotne związki, które znajdują się głównie w mezokarpie, mogą być efektywniej ekstrahowane dzięki zwiększonej przepuszczalności komórek po poddaniu wstępnej obróbce. Jednak w badaniu Fauster i in. [2020] zidentyfikowano niekorzystne skutki obróbki związane ze wzrostem zmętnienia i większą ilością polifenoli, które są niepożądanymi skutkami w przypadku białego wina. Wykryto jednak, że efekty w znacznym stopniu zależą od przetwarzanej odmiany. Badania Parniakov i in. [2014] wykazały, że ekstrakcja ciśnieniowa wspomagana obróbką PEF zwiększyła zawartość białek i polisacharydów w ekstraktach z grzybów. Puértolas i de Marañón [2015] wykazali, że poddanie działaniu pulsacyjnego pola elektrycznego zwiększa wydajność ekstrakcji oliwy z oliwek o 13% (2 kV/cm, 11,25 kJ/kg). Ponadto poddana obróbce oliwa z oliwek charakteryzowała się istotnie wyższą niż kontrola całkowitą zawartością fenoli, tokoferoli i fitosteroli. Technika pulsacyjnego pola elektrycznego wykazuje tym samym potencjał do wykorzystania w technologii zagospodarowania produktów ubocznych w procesach technologicznych, np. ekstrakcji pozostałości polifenoli z produktów ubocznych mango i papai [Parniakov i in. 2016], skórki cytryny [Peiró i in. 2019] czy obierków ziemniaczanych [Frontuto i in. 2019].

## Podsumowanie

Rozwój nowych technologii w przetwórstwie żywności wymuszany jest m.in. zainteresowaniem konsumentów produktami świeżymi o wysokiej wartości odżywczej oraz rosnącym popytem na żywność wytwarzaną metodami przy-

jaznymi środowisku. Wydaje się, że mogą one być stosowane samodzielnie lub wraz z innymi metodami w celu uzyskania bezpiecznych produktów wysokiej jakości odżywczej w sposób bardziej energooszczędny i przyjazny dla środowiska. Mimo że badania prowadzone są na całym świecie, to większość uzyskanych wyników nadal odnosi się do eksperymentów przeprowadzonych w skali laboratoryjnej.

Stosowanie niekonwencjonalnych metod w zakładach przetwórstwa spożywczego, magazynach i pakowniach wymaga zmian konstrukcyjnych i wyposażenia czy modyfikacji procesu. Koszt związany z tymi zmianami może być zasadniczym czynnikiem wpływającym na stosowanie tych technologii. Oprócz zagadnień wymagających bardziej podstawowych badań, do rozwiązania pozostają kwestie inżynierskie. Jednak pomimo wszystkich wyzwań technologia plazmowa, ozonowa czy pulsacyjnego pola elektrycznego mają wyjątkowy potencjał i być może w przyszłości znajdą zastosowanie w wybranych gałęziach przemysłu spożywczego.

## Piśmiennictwo

- Afsah-Hejri L., Hajeb P., Ehsani R.J., 2020. Application of ozone for degradation of mycotoxins in food: A review. *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.* 19, 1777–1808. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12594>
- Agriopoulou S., Koliadima A., Karaiskakis G., 2016. Kinetic study of aflatoxins' degradation in the presence of ozone. *Food Contr.* 6, 221–226, <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2015.09.013>.
- Agriopoulou S., Stamatelopoulou E., Varzakas T., 2020. Advances in occurrence, importance, and mycotoxin control strategies: Prevention and detoxification in foods. *Foods* 9, 137, <https://doi.org/10.3390/foods9020137>
- Akin E., Evrendilek G.A., 2009. Effect of pulsed electric fields on physical, chemical, and microbiological properties of formulated carrot juice. *Food Sci. Techn. Intern.* 15(3), 275–282, <https://doi.org/10.1177/1082013209341414>
- Ali A., Ong M., Forney C., 2014. Effect of ozone pre-conditioning on quality and antioxidant capacity of papaya fruit during ambient storage. *Food Chem.* 142, 19–26. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.07.039>
- Almeida F.D.L., Cavalcante R.S., Cullen P.J., 2015. Effects of atmospheric cold plasma and ozone on prebiotic orange juice. *Innovative Food Sci. Emerg. Technol.* 32, 127–135, <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2015.09.001>
- Alves Filho E.G., de Brito E.S., Rodrigues S., 2020. Effects of cold plasma processing in food components. W: D. Bermudez-Aguirre D (red.), *Advances in cold plasma applications for food safety and preservation*. Elsevier Inc, Waszyngton, 253–268, <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814921-8.00008-6>
- Amini M., Ghoranneviss M., 2016. Effects of cold plasma treatment on antioxidants activity, phenolic contents and shelf life of fresh and dried walnut (*Juglans regia* L.) cultivars during storage. *LWT* 73, 178–184, <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2016.06.014>
- Antos P., Kurdziel A., Sadło S., 2013. Preliminary study on the use of ozonation for the degradation of dithiocarbamate residues in the fruit drying process, mancozeb residue in blackcurrant is the example used. *J. Plant Prot. Res.* 53, 48–52, <https://doi.org/10.2478/jppr-2013-0007>
- Antos P., Piechowicz B., Gorzelany J., 2018. Effect of ozone on fruit quality and fungicide residue degradation in apples during cold storage. *Ozone Sci. Eng.* 40, 482–486. <https://doi.org/10.1080/01919512.2018.1471389>

- Asokapandian S., Periasamy S., Swamy G., 2018. Ozone for fruit juice preservation. [W:] G. Rajauria, B.K. Tiwari (red.), *Fruit Juices: Extraction, Composition, Quality and Analysis*. Elsevier, Kidlington, 511–527.
- Bahrami N., Bayliss D., Chope G., 2016. Cold plasma: A new technology to modify wheat flour functionality. *Food Chem.* 202, 247–253, <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.01.113>
- Balawejder M., Piechowiak T., 2019. Wybrane zastosowania ozonu w przemyśle spożywczym. *Przem. Spoż.* 73, 38–42, <https://doi.org/10.15199/65.2019.4.6>
- Bang I.H., Lee E.S., Lee H.S., 2020. Microbial decontamination system combining antimicrobial solution washing and atmospheric dielectric barrier discharge cold plasma treatment for preservation of mandarins. *Postharvest Biol. Technol.* 162, 111102. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2019.111102>
- Bao T., Hao X., Shishir M.R.L., 2021. Cold plasma: An emerging pretreatment technology for the drying of jujube slices. *Food Chem.* 337, 127783, <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.127783>
- Bao Y., Reddivari L., Huang J.-Y., 2020. Development of cold plasma pretreatment for improving phenolics extractability from tomato pomace. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.* 65, 102445, <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2020.102445>
- Barth M.M., Zhou C., Mercier J., 1995. Ozone storage effects on anthocyanin content and fungal growth in blackberries. *J. Food Sci.* 60, 1286–1288, <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1995.tb04575.x>
- Bechlin T.R., Granella S.J., Christ D., 2020. Effects of ozone application and hot-air drying on orange peel: moisture diffusion, oil yield, and antioxidant activity. *Food Bioprod. Process* 123, 80–89, <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2020.06.012>
- Bermúdez-Aguirre D., 2020. Disinfection of high-moisture food using cold plasma. [W:] D. Bermúdez-Aguirre (red.), *Advances in cold plasma applications for food safety and preservation*. Elsevier Inc, Waszyngton, 147–183, <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814921-8.00005-0>
- Bermúdez-Aguirre D., Mawson R., Versteeg K., BarbosaCánovas G.V., 2009. Composition properties, physicochemical characteristics and shelf life of whole milk after thermal and thermo-sonication treatments. *J. Food Quality* 32, 283–302, <https://doi.org/10.1111/j.1745-4557.2009.00250.x>
- Bermúdez-Aguirre D., Fernández S., Esquivel H., Dunne P.C., Barbosa-Cánovas G.V., 2011. Milk processed by pulsed electric fields: evaluation of microbial quality, physicochemical characteristics, and selected nutrients at different storage conditions. *J. Food Sci.* 76, S289–S299, <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2011.02171.x>
- Bermúdez-Aguirre D., Wemlinger E., Pedrow P., 2013. Effect of atmospheric pressure cold plasma (APCP) on the inactivation of *Escherichia coli* in fresh produce. *Food Contr.* 34, 149–157, <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2013.04.022>
- Bobinaite R., Pataro G., Lamanaskas N., Satkauskas S., Viskelis P., Ferrari G., 2015. Application of pulsed electric field in the production of juice and extraction of bioactive compounds from blueberry fruits and their by-products. *J. Food Sci. Technol.* 52, 5898–5905, <https://doi.org/10.1007/s13197-014-1668-0>
- Botondi R., Sanctis F., Moscatelli N., 2015. Ozone fumigation for safety and quality of wine grapes in postharvest dehydration. *Food Chem.* 188, 641–647. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.05.029>
- Bovi G.G., Fröhling A., Pathak N., 2019. Safety control of whole berries by cold atmospheric pressure plasma processing: A review. *J. Food Prot.* 82, 1233–1243, <https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-18-606>
- Bußler S., Ehlbeck J., Schlüter O.K., 2017. Pre-drying treatment of plant related tissues using plasma processed air: Impact on enzyme activity and quality attributes of cut apple and potato. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.* 40, 78–86, <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2016.05.007>
- Bußler S., Rawel H.M., Schlüter O.K., 2020. Impact of plasma processed air (PPA) on phenolic model systems: Suggested mechanisms and relevance for food applications. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.* 64, 102432. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2020.102432>

- Castro D.R.G., Mar J.M., da Silva L.S., 2020. Improvement of the bioavailability of Amazonian juices rich in bioactive compounds using glow plasma technique. *Food Bioprocess Technol.* 13, 670–679, <https://doi.org/10.1007/s11947-020-02427-8>.
- Charoux C.M.G., Patange A., Lamba S., O'Donnell C., Tiwari B., Scannell A., 2021. Applications of nonthermal plasma technology on safety and quality of dried food ingredients. *J. Appl. Microbiol.* 130, 325–340. <https://doi.org/10.1111/jam.14823>
- Chizoba Ekezie F.G., Sun D.W., Cheng J.H., 2017. A review on recent advances in cold plasma technology for the food industry: Current applications and future trends. *Trends Food Sci. Technol.* 69, 46–58, <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2017.08.007>.
- Contigiani E.V., Jaramillo-Sánchez G., Castro M.A., 2018. Postharvest Quality of Strawberry Fruit (*Fragaria* × *Ananassa* Duch cv. Albion) as Affected by Ozone Washing: Fungal Spoilage, Mechanical Properties, and Structure. *Food Bioprocess Technol.* 11, 1639–1650, <https://doi.org/10.1007/s11947-018-2127-0>.
- Corradini M.G., 2020. Modeling microbial inactivation during cold atmospheric-pressure plasma (CAPP) processing. W: D. Bermudez-Aguirre (red.), *Advances in cold plasma applications for food safety and preservation*. Elsevier Inc, Waszyngton, 93–108, <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814921-8.00003-7>
- Cullen P.J., Norton T., 2012. Ozone sanitisation in the food industry. W: C. O'Donnell, B.K. Tiwari, P.J. Cullen, R.G. Rice (red.), *Ozone in food processing*, Wiley-Blackwell, Oxford, 63–1761, <https://doi.org/10.1002/9781118307472.ch10>
- Dziadek K., Kopeć A., Drózdź T., Kielbasa P., Ostafin N., Bulski K., Oziembłowski M., 2019. Effect of pulsed electric field treatment on shelf life and nutritional value of apple juice. *J. Food Sci. Technol.* 56, 1184–1191, <https://doi.org/10.1007/s13197-019-03581-4>
- Fauster T., Philipp C., Hanz K., 2020. Impact of a combined pulsed electric field (PEF) and enzymatic mash treatment on yield, fermentation behaviour and composition of white wine. *Eur. Food Res. Technol.* 246, 609–620, <https://doi.org/10.1007/s00217-020-03427-w>
- Feizollahi E., Misra N.N., Roopesh M.S., 2020. Factors influencing the antimicrobial efficacy of Dielectric Barrier Discharge (DBD) Atmospheric Cold Plasma (ACP) in food processing applications. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 61, 666–689, <https://doi.org/10.1080/10408398.2020.1743967>
- Fernández A., Noriega E., Thompson A., 2013. Inactivation of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium on fresh produce by cold atmospheric gas plasma technology. *Food Microbiol.* 33, 24–29, <https://doi.org/10.1016/j.fm.2012.08.007>
- Frontuto D., Carullo D., Harrison S.M., 2019. Optimization of pulsed electric fields-assisted extraction of polyphenols from potato peels using response surface methodology. *Food Bioprocess Technol.* 12, 1708–1720, <https://doi.org/10.1007/s11947-019-02320-z>
- García-Mateos M.R., Quiroz-González B., Corrales-García J., 2019. Ozone-high hydrostatic pressure synergy for the stabilization of refrigerated pitaya (*Stenocereus prinosus*) juice. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.* 56, 102187, <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2019.102187>
- Garofulic I.E., Jambrak A.R., Milosevic S., 2015. The effect of gas phase plasma treatment on the anthocyanin and phenolic acid content of sour cherry Marasca (*Prunus cerasus* var. Marasca) juice. *LWT* 62, 894–900, <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2014.08.036>
- Goffi V., Zampella L., Forniti R., Petriccione M., Botondi R., 2019. Effects of ozone postharvest treatment on physicochemical and qualitative traits of *Actinidia chinensis* 'Soreli' during cold storage. *J. Sci. Food Agric.* 9913, 5654–5661, <https://doi.org/10.1002/jsfa.9823>
- Gupta A., Nanda V., Singh B., 2017. Cold plasma for food processing. W: V. Nanda, S. Sharma (red.), *Novel food processing technologies*. New India Publishing Agency, New Delhi, 623–660.
- Gutiérrez D.R., Lemos L., Rodríguez S.C., 2018. Effect of UV-C and ozone on the bioactive compounds and antioxidant capacity of minimally processed rocket (*Eruca sativa* Mill.). *Int. J. New Technol. Res.* 4, 23–29, <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2017.12.014>
- Herceg Z., Kovacevic D.B., Kljusuric J.G., 2016. Gas phase plasma impact on phenolic compounds in pomegranate juice. *Food Chem.* 190, 665–672, <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.05.135>
- Hou Y., Wang R., Gan Z., 2019. Effect of cold plasma on blueberry juice quality. *Food Chem.* 290, 79–86, <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.03.123>

- Jaeger H., Roth A., Toepfl S., Holzhauser S., Engel K.-H., Knorr D., Vogel R., Bandick N., Kulling S., Heinz V., Steinberg P., 2016. Opinion on the use of ohmic heating for the treatment of foods. *Trends Food Sci. Technol.* 55, 84–97, <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2016.07.007>
- Jin T.Z., Yu Y., Gurtler J.B., 2017. Effects of pulsed electric field processing on microbial survival, quality change and nutritional characteristics of blueberries. *LWT* 77, 517–524, <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2016.12.009>
- Karaca H., Velioglu S., 2014. Effects of ozone treatments on microbial quality and some chemical properties of lettuce, spinach, and parsley. *Postharvest Biol. Technol.* 88, 46–53, <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2013.09.003>
- Lacombe A., Niemira B.A., Gurtler J.B., 2015. Atmospheric cold plasma inactivation of aerobic microorganisms on blueberries and effects on quality attributes. *Food Microbiol.* 46, 479–484, <https://doi.org/10.1016/j.fm.2014.09.010>
- Laszlo V., Jenó S., 2016. Use of ozone in the dairy industry: A review. *Int. J. Dairy Technol.* 69, 157–168, <https://doi.org/10.1111/1471-0307.12302>
- Lee K.H., Kim H.J., Woo K.S., 2016. Evaluation of cold plasma treatments for improved microbial and physicochemical qualities of brown rice. *LWT* 73, 442–447, <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2016.06.055>
- Liu Z.-W., Zeng X.-A., Ngadi M., 2018. Enhanced extraction of phenolic compounds from onion by pulsed electric field (PEF). *J. Food Proc. Preserv.* 42, e13755, <https://doi.org/10.1111/jfpp.13755>
- Loginova K., Vorobiev E., Bals O., Lebovka N., 2011. Pilot study of countercurrent cold and mild heat extraction of sugar from sugar beets, assisted by pulsed electric fields. *J. Food Engin.* 102, 340–347, <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2010.09.010>
- López-Gámez G., Elez-Martínez P., Martín-Belloso O., Soliva-Fortuny R., 2020. Enhancing phenolic content in carrots by pulsed electric fields during post-treatment time: Effects on cell viability and quality attributes. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.* 59, 102252, <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2019.102252>
- Ludwikow A., Sadowski J., 2008. Gene networks in plant ozone stress response and tolerance. *J. Integr. Plant Biol.* 50, 1256–126, <https://doi.org/10.1111/j.1744-7909.2008.00738.x>
- Mahnot N.K., Siyu L.-P., Wan Z., 2020. In-package cold plasma decontamination of fresh-cut carrots: microbial and quality aspects. *J. Phys. D* 53, 154002, <https://doi.org/10.1088/1361-6463/ab6cd3>
- Marselle's-Fontanet A., Martín-Belloso O., 2007. Optimization and validation of PEF processing conditions to inactivate oxidative enzymes of grape juice. *J. Food Eng.* 83, 452–462, <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2007.04.001>
- Misra N., Kaur S., Tiwari B.K., 2015. Atmospheric pressure cold plasma (ACP) treatment of wheat flour. *Food Hydrocoll.* 44, 115–121, <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2014.08.019>
- Misra N.N., Pankaj S.K., Segat A., 2016. Cold plasma interactions with enzymes in foods and model systems. *Trends Food Sci. Technol.* 55, 39–47, <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2016.07.001>
- Najda A., Klimek K., Balant S., Maj G., Piekarski W., Krzaczek P., 2018. Effect of ozonation on the content of essential oil and biological activity of the *Mentha × piperita* L. raw material. *Przem. Chem.* 97, 1055–1058, <https://doi.org/10.15199/62.2018.7.4>
- Nath A.K., Mukhim K., Swer T., 2014. A Review on application of ozone in the food processing and packaging. *J. Food Prod. Develop. Pack* 1, 7–21.
- Nowosad K., Sujka M., Pankiewicz U., Kowalski R., 2021. The application of PEF technology in food processing and human nutrition. *J. Food Sci. Technol.* 58, 397–411, <https://doi.org/10.1007/s13197-020-04512-4>
- Oksanen E., Haikio E., Sober J., 2004. Ozone-induced H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> accumulation in field-grown aspen and birch is linked to foliar ultrastructure and peroxisomal activity. *New Phytol.* 161, 791–799, <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2003.00981.x>
- Oziembłowski M., Drózd T., Wrona P., 2016. Oddziaływanie Pulsacyjnych Pól Elektrycznych (PEF) na mikroorganizmy w kontekście technologii żywności. *Przegl. Elektrotechn.* 92, 12.
- Pallarés N., Berrada H., Tolosa J., Ferrer E., 2021. Effect of high hydrostatic pressure (HPP) and pulsed electric field (PEF) technologies on reduction of aflatoxins in fruit juices, *LWT* 142, 111000, <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.111000>

- Pankaj S.K., Bueno-Ferrer C., Misra N.N., 2014. Applications of cold plasma technology in food packaging. *Trends Food Sci. Technol.* 35, 5–17, <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2013.10.009>
- Pankaj S.K., Wan Z., Keener K.M., 2018. Effects of cold plasma on food quality: A review. *Foods* 7, 4, <https://doi.org/10.3390/foods7010004>
- Pankiewicz U., Sujka M., Kowalski R., Mazurek A., Włodarczyk-Stasiak M., Jamroz J., 2017. Effect of pulsed electric fields (PEF) on accumulation of selenium and zinc ions in *Saccharomyces cerevisiae* cells. *Food Chem.* 221, 1361–1370, <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.11.018>
- Pankiewicz U., Sujka M., Włodarczyk-Stasiak M., Mazurek A., Jamroz J., 2014. Effect of pulse electric fields (PEF) on accumulation of magnesium and zinc ions in *Saccharomyces cerevisiae* cells. *Food Chem.* 157, 125–131, <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.02.028>
- Parniakov O., Barba F.J., Grimi N., Lebovka N., Vorobiev E., 2016. Electro-biorefinery as a potential tool for valorization of mango and papaya by-products. W: T. Jarm, P. Kramar (red.) 1st World congress on electroporation and pulsed electric fields in biology, Medicine and Food & Environmental Technologies. IFMBE Proceedings, vol. 53. Springer, Singapur, [https://doi.org/10.1007/978-981-287-817-5\\_91](https://doi.org/10.1007/978-981-287-817-5_91)
- Parniakov O., Lebovka N., Van Hecke E., Vorobiev E., 2014. Pulsed electric field assisted pressure extraction and solvent extraction from mushroom (*Agaricus bisporus*). *Food Bioprocess Technol.* 7(1), 174–183, <https://doi.org/10.1007/s11947-013-1059-y>
- Peiró S., Luengo E., Segovia F., 2019. Improving polyphenol extraction from lemon residues by pulsed electric fields. *Waste Biomass Valoris* 10, 889–897, <https://doi.org/10.1007/s12649-017-0116-6>.
- Petruzzi L., Campaniello D., Speranza B., 2017. Thermal treatments for fruit and vegetable juices and beverages: A literature overview. *Compr. Rev. Food Sci. F.* 668–691, <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12270>
- Piechowiak T., Antos P., Kosowski P., Skrobacz K., Józefczyk R., Balawejder M., 2019. Impact of ozonation process on the microbiological and antioxidant status of raspberries (*Rubus idaeus* L.) during storage at room temperature. *Agric. Food Sci.* 28, 35–44, <https://doi.org/10.23986/afsci.70291>
- Piechowiak T., Skóra B., Balawejder M., 2020. Ozone Treatment Induces Changes in Antioxidative Defense System in Blueberry Fruit During Storage. *Food Bioprocess Technol.* 13, 1240–1245, <https://doi.org/10.1007/s11947-020-02450-9>
- Piechowiak T., Sowa P., Balawejder M., 2021. Effect of Ozonation Process on the Energy Metabolism in Raspberry Fruit During Storage at Room Temperature. *Food Bioprocess Technol.* 14, 483–491, <https://doi.org/10.1007/s11947-021-02591-5>
- Porto E., Alves Filho E.G., Silva L.M.A., 2020. Ozone and plasma processing effect on green coconut water. *Food Res. Int.* 131, 109000, <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109000>
- Puértolas E., de Marañón I.M., 2015. Olive oil pilot-production assisted by pulsed electric field: impact on extraction yield, chemical parameters and sensory properties. *Food Chem.* 167, 497–502, <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.07.029>
- Puligundla P., Lee T., Mok C., 2020. Effect of corona discharge plasma jet treatment on the degradation of aflatoxin B1 on glass slides and in spiked food commodities. *LWT* 124, 108333, <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.108333>
- Rahaman A., Zeng X.-A., Farooq M.A., 2020. Effect of pulsed electric fields processing on physicochemical properties and bioactive compounds of apricot juice. *J. Food Process Eng.* 43, e13449, <https://doi.org/10.1111/jfpe.13449>
- Ramazzina I., Berardinelli A., Rizzi F., Tappi S., Ragni L., Sacchetti G., Rocculi P., 2015. Effect of cold plasma treatment on physico-chemical parameters and antioxidant activity of minimally processed kiwifruit. *Postharvest Biol. Technol.* 107, 55–65, <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2015.04.008>
- Reineke K., Schottroff F., Meneses N., Knorr D., 2015. Sterilization of liquid foods by pulsed electric fields-an innovative ultra-high temperature process. *Front. Microbiol.* 6, 400, <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.00400>
- Riener J., Noci F., Cronin D.A., Morgan D.J., Lyng J.G., 2009. Effect of high intensity pulsed electric fields on enzymes and vitamins in bovine raw milk. *Int. J. Dairy Technol.* 62, 1–6, <https://doi.org/10.1111/j.1471-0307.2008.00435.x>

- Rodríguez O., Gomes W.F., Rodrigues S., 2017. Effect of indirect cold plasma treatment on cashew apple juice (*Anacardium occidentale* L.). *LWT* 84, 457–463, <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.06.010>
- Rybak K., Samborska K., Jedlińska A., Parniakov O., Nowacka M., Witrowa-Rajchert D., Wiktor A., 2020. The impact of pulsed electric field pretreatment of bell pepper on the selected properties of spray dried juice. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.* 65, 102446, <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2020.102446>
- Sachadyn-Król M., Agriopoulou S., 2020. Ozonation as a method of abiotic elicitation improving the health-promoting properties of plant products. A review. *Molecules* 25, 2416, <https://doi.org/10.3390/molecules25102416>
- Sachadyn-Król M., Materska M., Chilczuk B., Karaś M., Jakubczyk A., Perucka I., Jackowska I., 2016. Ozone-induced changes in the content of bioactive compounds and enzyme activity during storage of pepper fruits. *Food Chem.* 211, 59–67, <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.05.023>
- Sarangapani C., O’Toole G., Cullen P.J., 2017. Atmospheric cold plasma dissipation efficiency of agrochemicals on blueberries. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.* 44, 235–241, <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2017.02.012>
- Segade S.R., Vincenzi S., Giacosa S., 2019. Changes in stilbene composition during postharvest ozone treatment of ‘Moscato bianco’ winegrapes. *Food Res. Int.* 123, 251–257, <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.04.061>
- Sitzmann W., Vorobiev E., Lebovka N., 2016. Applications of electricity and specifically pulsed electric fields in food processing: Historical backgrounds. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.* 37, Part C, 302–311, <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2016.09.021>
- Soares M.V.L., Alves Filho E.G., Silva L.M.A., 2017. Tracking thermal degradation on passion fruit juice through nuclear magnetic resonance and chemometrics. *Food Chem.* 219, 1–6, <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.09.127>
- Syed Q.A., Ishaq A., Rahman U.U., Aslam S., Shukat R., 2017. Pulsed electric field technology in food preservation: a review. *J. Nutr. Health Food Engin.* 6, 168–172, <https://doi.org/10.15406/JNHFE.2017.06.00219>
- Tabakoglu N., Karaca H., 2018. Effects of ozone-enriched storage atmosphere on postharvest quality of black mulberry fruits (*Morus nigra* L.). *LWT* 92, 276–281, <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.02.044>
- Tappi S., Berardinelli A., Ragni L., 2014. Atmospheric gas plasma treatment of fresh-cut apples. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.* 21, 114–122, <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2013.09.012>
- Terefe N.S., Buckow R., Versteeg C., 2013. Quality related enzymes in plant based products: effects of novel food processing technologies. Part 2: pulsed electric field processing. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 55, 1–15, <https://doi.org/10.1080/10408398.2012.701253>
- Timmermans R.A.H., Groot M.N., Nederhoff A.L., Van Boekel M.A.J.S., Matser A.M., Mastwijk H.C., 2014. Pulsed electric field processing of different fruit juices: Impact of pH and temperature on inactivation of spoilage and pathogenic micro-organisms. *Int. J. Food Microbiol.* 173, 105–111, <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2013.12.022>
- Timmermans R.A.H., Mastwijk H.C., Berendsen L.B.J.M., Nederhoff A.L., Matser A.M., Van Boekel M.A.J.S., Nierop Groot M.N., 2019. Moderate intensity Pulsed Electric Fields (PEF) as alternative mild preservation technology for fruit juice. *Int. J. Food Microbiol.* 298, 63–73, <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2019.02.015>
- Ukuku D.O., Niemira B.A., Ukanalis J., 2019. Nisin-based antimicrobial combination with cold plasma treatment inactivate *Listeria monocytogenes* on Granny Smith apples. *LWT* 104, 120–127, <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.12.049>
- Velioglu S., Ergen S.F., Aksu P., 2018. Effects of ozone treatment on the degradation and toxicity of several pesticides in different groups. *J. Agric. Sci.* 24, 245–255, <https://doi.org/10.15832/ankutbd.446448>
- Wang S., Wang J., Li C., Xu Y., Wu Z., 2021. Ozone treatment pak choi for the removal of malathion and carbosulfan pesticide residues. *Food Chem.* 337, 127755, <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.127755>
- Wang L., Fan X., Sokorai K., Sites J., 2019. Quality deterioration of grape tomato fruit during storage after treatments with gaseous ozone at conditions that significantly reduced popula-



- tions of Salmonella on stem scar and smooth surface. Food Contr. 103, 9–20, <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2019.03.026>
- Witrowa-Rajchert D., 2012. Pulsacyjne pole elektryczne (PEF) – zastosowanie w produkcji żywności projektowanej. Przem. Spoż. 66, 32–34.
- Yousuf A., Rahman M.A., Uddin M.R., Hoque M.M., Sayem A., 2020. Pineapple juice preservation by pulsed electric field treatment. Open J. Biol. Sci. 5, 006–012, <https://doi.org/10.17352/ojbs.000016>
- Zhang H., Wang Z., Yang R.J., Xu S.Y., 2007. Inactivation of microorganisms in cloudy ginkgo (*Ginkgo biloba* Linn.) juice by pulsed electric fields. Food Sci. Technol. Int. 13, 83–90, <https://doi.org/10.1177/1082013207078522>
- Zhang W., Li L., Shu Z., Wang P., Zeng X., Shen W., Ding W., Shi Y.-Ch., 2021. Properties of flour from pearled wheat kernels as affected by ozone treatment. Food Chem. 341, 128203, <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.128203>
- Zhang X., Zhang Z., Wang L., 2011. Impact of ozone on quality of strawberry during cold storage. Front Agric. China 5, 356–360, <https://doi.org/10.1007/s11703-011-1053-y>
- Zhao Y.M., de Alba M., Sun D.-W., 2019. Principles and recent applications of novel non-thermal processing technologies for the fish industry – a review. Crit. Rev. Food Sci. Nutr. 59, 728–742, <https://doi.org/10.1080/10408398.2018.1495613>
- Zhu X., Jiang J., Yin C., 2019. Effect of ozone treatment on flavonoid accumulation of satsuma mandarin (*Citrus unshiu* Marc.) during ambient storage. Biomolecules 9, 821, <https://doi.org/10.3390/biom9120821>
- Ziarno M., Zaręba D., 2015. Wykorzystanie ozonu do niszczenia mikroorganizmów. Przem. Spoż. 69, 15–18, <https://doi.org/10.15199/65.2015.6.3>



## Aktywne folie i powłoki jadalne o działaniu przeciwutleniającym

### Wstęp

Rolą producentów żywności jest produkcja żywności bezpiecznej, dobrej jakościowo o możliwie najdłuższym okresie przydatności do spożycia. Istotne znaczenie w osiągnięciu tego celu pełnią opakowania. W rozwoju opakowalnicstwa zarówno w Polsce, jak i na świecie, dominują dwa kierunki badawcze. Pierwszy z nich jest ściśle związany z wytwarzaniem materiałów opakowaniowych przyjaznych środowisku, otrzymywanych na bazie surowców odnawialnych. Drugi kierunek związany jest z ochroną produktu dzięki zastosowaniu nowych typów opakowań, tzw. opakowań aktywnych i inteligentnych.

Nadmiar zużytych opakowań plastikowych, a przy tym wyczerpywanie się zasobów ropy naftowej sprawiają, że coraz intensywniej rozwija się nurt opakowań biodegradowalnych. Unikalną kategorią tego typu opakowań są opakowania jadalne, które można stosować wszędzie tam, gdzie aplikacja opakowań z tworzyw sztucznych jest ograniczona. Najczęstsze formy użytkowe opakowań jadalnych to folie (filmy), powłoki, osłonki, kapsułki i mikrokapsułki, warstwy rozdzielające poszczególne składniki żywności, torebki i saszetki do porcjowania żywności itp.

### Składniki do produkcji opakowań jadalnych

Podstawowymi materiałami do produkcji opakowań jadalnych są polisacharydy, białka i lipidy (tab. 1). Każda z wymienionych grup związków ma charakterystyczne właściwości funkcjonalne. Dobre właściwości strukturotwórcze biopolimerów nadają foliom spójność i wytrzymałość, lecz ich hydrofilowy charakter sprawia, że warstewki takie nie stanowią dobrej bariery dla pary wodnej i w bezpośrednim kontakcie z wodą ulegają zniszczeniu. Folie otrzymywane z polisacharydów i białek mogą być stosowane jako bariery ograniczające dyfu-

zję tlenu, ditlenku węgla, związków aromatycznych i olejów. Z kolei powłoki lipidowe znajdują głównie zastosowanie jako bariera chroniąca produkt przed utratą wilgoci. Materiałom opakowaniowym do żywności stawiany jest szereg wymagań, m.in. barierowość wobec wody, gazów, światła, przezroczystość, wytrzymałość mechaniczna, plastyczność itp. Aby spełnić te wszystkie funkcje, opakowanie powinno stanowić mieszaninę związków o charakterze zarówno hydrofobowym, jak i hydrofilowym. Konieczny jest również dodatek substancji pomocniczych: emulgatorów, plastyfikatorów i/lub surfaktantów (tab. 1). Po wprowadzeniu odpowiednich substancji opakowania jadalne oprócz tradycyjnej roli ochronnej (tj. izolowania produktu od otoczenia) mogą spełniać dodatkowe funkcje użytkowe, m.in. zapobiegać niekorzystnym procesom oksydoredukcyjnym, czy też zmianom powodowanym przez mikroorganizmy.

Obecnie najbardziej popularna metoda wytwarzania folii jadalnych polega na wylaniu cienkiej warstwy roztworu biopolimerowego, wraz z ewentualnymi dodatkami, na wypoziomowaną powierzchnię (np. tacki powlekanie teflonem) i odparowanie rozpuszczalnika. Związek aktywny wprowadzany jest do roztworu foliotwórczego w trakcie jego wytwarzania, tj. po wymieszaniu biopolimeru z rozpuszczalnikiem (najczęściej wodą). W przypadku inkorporacji aktywnych związków apolarnych, w celu uzyskania stabilnego układu emulsyjnego, wymagany jest proces homogenizacji. Powłoki na żywność nanoszone są najczęściej metodą zanurzeniową.

Pogorszenie jakości żywności w trakcie przechowywania często jest wynikiem procesów utlenienia. Dlatego ważną grupę opakowań aktywnych stanowią

Tabela 1. Składniki folii i powłok jadalnych

Polisacharydy roślinne	pochodne celulozowe (m.in. metyloceluloza (MC), karboksymetyloceluloza (CMC), hydroksypropylometyloceluloza (HPMC)), skrobia różnego pochodzenia botanicznego oraz jej pochodne (m.in. utleniona skrobia ziemniaczana (OPS), skrobia typu OSA)), pektyny, alginiany, guma arabska (GAR), polisacharydy sojowe (WSSP)
Polisacharydy zwierzęce	chitozan (CHIT) i jego pochodne (m.in. mleczan CHIT)
Polisacharydy mikroorganizmów	pullulan (PUL), karagen, ksantan
Białka roślinne	białka nasion roślin strączkowych (m.in. izolat białka soi (SPI)), gluten
Białka zwierzęce	żelatyna (GEL), zeina, izolat białka serwatkowego (WPI), kazeina,
Lipidy	wosk kandelila, wosk karnauba, wosk pszczeli, tłuszcze roślinne i zwierzęce (m.in. bezwodny tłuszcz mleczny, olej palmowy), kwasy tłuszczowe (m.in. kwas oleinowy)
Plastyfikatory	poliole (m.in. glicerol i sorbitol)
Substancje pomocnicze	emulgatory (m.in. Tween, lecytyna)

opakowania o działaniu antyoksydacyjnym. Bardzo dobre właściwości barierowe warstewek polisacharydowych i białkowych w stosunku do tlenu sprawiają, że są one użyteczne w formowaniu materiałów ochronnych dla produktów wrażliwych na tlen. Przepuszczalność O<sub>2</sub> (w warunkach niskiej wilgotności względnej powietrza) przez warstwy uzyskane z izolatu białka sojowego (SPI) jest od 325- do 1750-krotnie niższa niż folii polietylenowej [McHugh i Krochta 1994]. Włączenie substancji przeciwutleniających w skład folii/powłok jadalnych pozwala na stworzenie aktywnej ochrony, w której stopniowa migracja przeciwutleniacza z matrycy polimerowej do powierzchniowych warstw produktu zapewnia wysoką efektywność działania. Materiały tego typu ograniczają przede wszystkim niekorzystne zmiany jakości surowców zawierających kwasy tłuszczowe, w tym mięsa [Vital i in. 2016], ryb [Cruz i in. 2021], sera [Saravani i in. 2019] i orzechów [Mehyar i in. 2012], ale mogą być one również przydatne w inhibicji brązowienia enzymatycznego minimalnie przetworzonych owoców [Rojas-Graü i in. 2009].

W ostatnich latach obserwuje się coraz większe zainteresowanie naturalnymi przeciwutleniaczami. Wśród nich największą grupę, bardzo zróżnicowaną zarówno pod względem budowy, jak i właściwości stanowią polifenole, których bogatym źródłem są zioła i przyprawy. Jadalne folie i powłoki o działaniu przeciwutleniającym uzyskiwano wprowadzając do roztworów biopolimerowych m.in. ekstrakty z rozmarynu, żeń-szenia, chmielu i herbaty (tab. 2), a także liczne roślinne olejki eteryczne (tab. 3). Równie często wprowadzane są pojedyncze związki przeciwutleniające, takie jak kwas L-askorbinowy (AA), astaksantyna (ASX),  $\alpha$ -tokoferol, kwercetyna czy kurkumina (tab. 4).

Prace przeglądowe systematyzujące składniki oraz właściwości jadalnych opakowań żywności o działaniu przeciwutleniającym były już uprzednio publikowane [Eça i in. 2014, Benbettaieb i in. 2019a, 2019b, Hashemi i in. 2020, Chen i in. 2021]. Przy inkorporacji przeciwutleniaczy do żywności należy pamiętać, że ich dodatek w wyższym stężeniu może niekorzystnie zmienić właściwości użytkowe folii (np. obniżyć wytrzymałość mechaniczną), w tym nadać specyficzną barwę, smak i aromat, co z kolei może ograniczyć potencjał aplikacyjny materiału.

## **Wpływ dodatku przeciwutleniaczy na właściwości fizykochemiczne folii**

### **Wpływ dodatku przeciwutleniaczy na właściwości optyczne folii**

Cechą wielu związków obecnych w żywności (m.in. barwników, witamin i niezbędnych nienasyconych kwasów tłuszczowych) jest ich degradacja po ekspozycji na działanie światła. Właściwości optyczne materiałów opakowaniowych wpływają w bezpośredni sposób nie tylko na wygląd zapakowanego produktu, a także jego stabilność fotooksydacyjną. W licznych zastosowaniach požądane są folie bezbarwne i dobrze absorbujące promieniowanie UV.

Tabela 2. Folie inkorporowane roślinnymi ekstraktami o działaniu przeciwutleniającym

Składniki foliotwórcze	Składnik przeciwutleniający; stężenie w roztworze foliotwórczym	Metoda pomiaru właściwości przeciwutleniających	Obserwacje	Źródło
CMC, OPS, SPI, GEL wieprzowa + воск kandelila + sorbitol	komercyjny etanolowy ekstrakt chmielu; 0,1–0,5% (m/m)	ABTS, FRAP	folie lepiej rozpuszczalne w wodzie (CMC i SPI) szybciej uwalniały polifenole ekstraktu, a co za tym idzie, wykazywały lepszą aktywnością przeciwutleniającą w porównaniu z folią posiadających zdolność pęcznienia w wodzie (OPS i GEL)	Kowalczyk i Biendl 2016
GEL rybia + glicerol	sproszkowany ekstrakt z odpadów owoców daktylowca; 5–25% (m/m)	ABTS, oznaczenie PV i AV oleju rzepakowego (folia o wymiarach 2 × 2 cm została umieszczona w 50 ml oleju przechowywanego w 45°C)	liniowy wzrost potencjału przeciwrodnikowego oraz aktywności antyperoksydacyjnej wraz ze wzrostem zawartości ekstraktu	Rangaraj i in. 2021
GEL (rybia i wołowa) + sorbitol/glicerol	wodny ekstrakt oregano (0,3–1,25 % m/v) i rozmarynu (2,5 i 20% m/v)	ABTS, FRAP	dodatek ekstraktu z oregano umożliwił uzyskanie folii o lepszym potencjale antoksydacyjnym aniżeli dodatek ekstraktu z rozmarynu; folie z GEL rybiej wolniej uwalniały polifenole ekstraktu aniżeli folie otrzymane z GEL wołowej	Gómez-Estaca i in. 2009
Guma z nasion babki płesznik + glicerol	wolny i mikrokapsułkowany (alginianem wapnia) etanolowy ekstrakt z wyłoków morwy; 10 i 20%	DPPH	folie inkorporowane ekstraktem miały wyższą aktywność antyrodnikową aniżeli folie inkorporowane mikrokapsułkowanym ekstraktem; w miarę wzrostu pH środowiska (2–12) folie z ekstraktem zmieniały barwę z czerwonej na niebieską	Zhang i in. 2021b
MC + glicerol	etanolowy ekstrakt z <i>Rheum ribes</i> L. (gatunek rośliny z rodziny rdestowatych); 0,5–2%	DPPH	liniowy wzrost potencjału przeciwrodnikowego wraz ze wzrostem zawartości ekstraktu; folie zawierające 2% ekstraktu wykazywały zdolność neutralizacji wolnych rodników na poziomie 45,29%	Kalkan i in. 2020

Skrobia (z kassawy) + glicerol	wodny ekstrakt rozmarynu; 5–20% (m/m/)	DPPH	liniowy wzrost potencjału przeciwrodnikowego (od 28,6 do 81,9%) wraz ze wzrostem zawartości ekstraktu	Piñeros-Hernandez i in. 2017
Alginian sodu + glicerol	etanolowe ekstrakty z białego i czerwonego żeń-szenia; 0,5 g/ml	DPPH	folie zawierające ekstrakt z czerwonego żeń-szenia lepiej neutralizowały rodniki (33,60%) aniżeli folie z dodatkiem ekstraktu z białego żeń-szenia (21,37%)	Norajit i in. 2010
Furceleran/GEL	wodne ekstrakty herbaty pu-erh i herbaty zielonej; 5–20%	ABTS, DPPH	aktywność antyrodnikowa folii zawierających ekstrakty herbaty pu-erh i herbaty zielonej była porównywalna; barwa folii z ekstraktami uzależniona była od pH środowiska	Jamróż i in. 2019b
Polisacharydy morwy indyjskiej + glicerol	ekstrakt liści borówki amerykańskiej; 0,4–1%	ABTS, DPPH, FRAP, zdolność chelatowania Fe <sup>2+</sup>	liniowy wzrost potencjału antyoksydacyjnego (z wyjątkiem neutralizacji rodników ABTS) wraz ze wzrostem zawartości ekstraktu	Han i Song 2021
Alginian sodu + glicerol	sproszkowany etanolowy ekstrakt z żołądź <i>Quercus infectoria</i> ; 2,5–50% w przeliczeniu na alginian sodu	DPPH	liniowy wzrost potencjału antyoksydacyjnego (do 75,8%) wraz ze wzrostem zawartości ekstraktu	Aloui i in. 2021
Chitozan + glicerol	etanolowy ekstrakt z czarnego i fioletowego bakłażana; 1–3% (m/m)	DPPH	folie zawierające ekstrakt z czarnego bakłażana lepiej neutralizowały rodniki aniżeli folie z dodatkiem ekstraktu z fioletowego bakłażana; barwa folii z ekstraktami uzależniona była od pH środowiska	Yong i in. 2019
GEL rybia, SPI + glicerol + emulgatory	etanolowy ekstrakt z pestek mango; 1–5% (m/m) w przeliczeniu na GEL	ABTS, DPPH, FRAP	folie otrzymane z SPI wykazywały wyższą aktywność przeciwutleniającą aniżeli folie z GEL (89% vs. 58% w teście neutralizacji rodników DPPH przy maksymalnym poziomie dodatku ekstraktu)	Adilah i in. 2017

Tabela 3. Folie inkorporowane olejkami eterycznymi o działaniu przeciwutleniającym

Składniki foliotwórcze	Składnik przeciwutleniający; stężenie w roztworze foliotwórczym	Metoda pomiaru właściwości przeciwutleniających	Obserwacje	Źródło
Skrobia + glicerol + guma guar/ksantan	olejek z czarnuszki, olejek z oregano; 0,5–2%	DPPH	folie inkorporowane olejkami z oregano wykazywały większą zdolność neutralizacji wolnych rodników (23,8–87,7%) aniżeli folie zawierające olejek z czarnuszki (5,5–12,4%)	Šuput i in. 2016
CHIT	olejki z tymianku ( <i>Thymus zygis</i> , <i>Thymus mastichina</i> , <i>Thymus capitatus</i> i <i>Thymus vulgaris</i> ); 1–2%	DPPH, FRAP	wg testu DPPH folia zawierająca olejek z <i>Thymus zygis</i> posiadała najwyższą aktywność przeciwutleniającą. Wg testu FRAP folia zawierająca olejek z <i>Thymus capitatus</i> posiadała najwyższą aktywność przeciwutleniającą	Ballester-Costa i in. 2016
SPI + mikrowłókna celulozowe + glicerol	olejek goździkowy; 50 g/100 g SPI	ABTS	znaczny wzrost potencjału przeciwrodnikowego folii spowodowany głównie obecnością eugenolu, kwasu galusowego i kawowego w olejku	Ortiz i in. 2018
WSSP + glicerol	olejek cynamonowy; 0,2–0,8% (v/v)	DPPH	znaczny wzrost potencjału przeciwrodnikowego folii z 1,04 do 6,84–10,80%	Ghani i in. 2018
CHIT + glicerol	olejek cynamonowy; 0,25–1%	DPPH, ABTS, inhibicja hemolizy erytrocytów	liniowy wzrost aktywności przeciwrodnikowej wraz ze wzrostem zawartości olejku	López-Mata i in. 2015
Skrobia z pestek nieśpłika japońskiego + guma karaya + Tween 80 + sorbitol	olejek oregano; 0,6–1,8%	DPPH, ABTS	dodatek gumy karaya oraz Tween 80 nie miał wpływu na aktywność przeciwrodnikową folii	Cao i Song 2019
CHIT + Tween 80	olejek z pestek moreli; stosunek CHIT/olejek 1 : 1, 1 : 0,5, 1 : 0,25, 1 : 0,125, 1 : 0	DPPH, neutralizacja H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	po dodatku olejku do folii zdolność neutralizacji rodnika DPPH wzrosła z 21,8% do 25,9–35,3%	Priyadarshi i in. 2018
Białko z morskczuka + glicerol	olejek cytronelowy, kolendrowy, estragonowy i tymiankowy; 0,25 ml/g białka	DPPH, FRAP	folie zawierające olejek cytronelowy i kolendrowy wykazywały najwyższą aktywność przeciwutleniającą	Pires i in. 2013



Ekstrakty pochodzenia roślinnego mają smak, barwę oraz zapach. W konsekwencji cechy te wnoszone są do folii aktywowanych ich dodatkiem. Kowalczyk i in. [2021] wykazali, że wraz ze wzrostem stężenia izo- $\alpha$  kwasów (grupa organicznych związków powstających z  $\alpha$ -kwasów występujących w szyszkach chmielu) folie otrzymane z CMC, GEL oraz ich mieszanin stawały się coraz bardziej żółto-zielone i barierowe dla promieniowania UV. Folie o ulepszonym potencjale przeciwfotooksydacyjnym uzyskano także poprzez domieszkowanie folii biopolimerowych wzrastającymi stężeniami etanolowego ekstraktu chmielowego (EHE), AA, czy palmitynianu askorbylu (AP, lipofilna forma witaminy C) [Kowalczyk 2016, Łupina i in. 2020]. Należy podkreślić, że folie bez dodatku przeciwutleniaczy również mogą efektywnie blokować przenikanie promieniowania UV. Zdolność taką posiadają przede wszystkim folie proteinowe [Kowalczyk i Baraniak 2014]. Białka absorbują promieniowanie UV dzięki obecności aminokwasów aromatycznych, głównie tryptofanu (który absorbuje światło o długości fali  $\lambda = 260\text{--}310$  nm z maximum przypadającym na  $\lambda = 280$  nm [Voet i Voet 2010], jak również tyrozyny i fenyloalaniny, a także wiązań disiarczkowych. Przy  $\lambda = 190$  nm znajduje się szczyt absorbancji białek, który wynika z obecności wiązań peptydowych [Aitken i Learmonth 2009]. Badania przeprowadzone przez Kowalczyk i Baraniak [2014] wykazały, że folia otrzymana z SPI lepiej blokuje promieniowanie UV, aniżeli folia żelatynowa. Udowodnia to, że profil aminokwasowy odgrywa kluczową rolę w kreowaniu pożądanych właściwości fotoprotekcyjnych folii. Stosunkową dobrą zdolność pochłaniania światła UV mają także folie chitozanowe, co można wytłumaczyć faktem, że monomery chitozanu (N-cetyloglukozoamina i glukozoamina) absorbują tzw. daleki UV [Kowalczyk i in. 2015].

Z powodu samoistnej degradacji składnika aktywnego, a także z uwagi na możliwość interakcji przeciwutleniacza ze składnikami matrycy, opakowania aktywne mogą zmieniać swoją barwę w czasie składowania. Przemysłowo produkowany AA wytwarzany jest z glukozy, stąd też niski koszt produkcji w połączeniu z aktywnością biologiczną i zdolnością pochłaniania tlenu sprawiają, że AA może stanowić idealny składnik opakowań o działaniu przeciwutleniającym. Makroskopowym objawem degradacji AA jest jego żółknięcie. AA wykazuje największą stabilność w środowisku kwaśnym. Z tego powodu zaobserwowano, że w przypadku folii aktywowanych AA materiały o niższym pH ulegają wolniejszemu żółknięciu i brązowieniu w porównaniu z materiałami o wyższym pH. Bardzo intensywne brązowienie zaobserwowano w przypadku folii otrzymanej z SPI. Było to najprawdopodobniej spowodowane interakcją białek soi z produktami rozpadu AA (reakcje Maillarda). Postępujące w czasie brązowienie folii SPI/AA może ograniczać jej potencjał użytkowy do wybiórczych zastosowań, np. powlekania tylko ciemnozabarwionej żywności (w tym orzechów). Niemniej jednak zmiana barwy może być także wykorzystana do celowej koloryzacji powierzchni stosowanej w systemach opakowań inteligentnych (indykatory czasu i temperatury) [Kowalczyk 2016].

Tabela 4. Folie inkorporowane związkami o działaniu przeciwutleniającym

Składniki foliotwórcze	Składnik przeciwutleniający; stężenie w roztworze foliotwórczym	Metoda pomiaru właściwości przeciwutleniających	Obserwacje	Źródło
CMC, OPS, SPI, GEL wieprzowa + wosk kandelila + sorbitol	AA; 0,5–2% (m/m)	ABTS, FRAP, zapobieganie utlenianiu kwasu linolowego	12–16-krotny wzrost aktywności przeciwrodnikowej folii przy zastosowaniu 2% poziomu inkorporacji AA; szybkie brązowienie folii otrzymanych z SPI i CMC; folia uzyskana z OPS zapewniała największą stabilność AA	Kowalczyk 2016
OPS + sorbitol	AA i SA; 25–100 mM	ABTS, FRAP	brak różnic w aktywności przeciwutleniającej folii zawierających AA i SA; szybsze brązowienie folii z SA	Kowalczyk i in. 2018
GAR/GEL, skrobia typu OSA/GEL, WSSP/GEL + glicerol	AP; 1–2% (m/m)	DPPH	potencjał antyrodnikowy folii malał w następującej kolejności: OSA/GEL > WSSP/GEL > GAR/GEL	Łupina i in. 2020
CHIT/zeina	$\alpha$ -tokoferol; 0,5–2% (m/v)	DPPH	zależność pomiędzy aktywnością antyrodnikową a stężeniem $\alpha$ -tokoferolu nie była liniowa; największą aktywność obserwowano po wprowadzeniu 1% dodatku $\alpha$ -tokoferolu	Zhang i in. 2020
SPI + glicerol	kwas ferulowy; 50–200 mg/50 ml	zapobieganie utlenianiu smalcu w słoiku zakrytym folią	kwas ferulowy najprawdopodobniej poprawił właściwości barierowe folii w stosunku do tlenu	Ou i in. 2005
CHIT/GEL	kompleks kwercyna/skrobia/Tween 80/etanol; 1 mg/ml	ABTS, DPPH	Inkorporacja kompleksu kwercyny w skład folii zwiększyła zdolność neutralizacji rodników ABTS z 18,11% do 72,2%	Yadav i in. 2020

GAR/GEL, WSSP/GEL + glicerol	AstaSana™ 5% CWS/S-TG (astaksantyna, skrobia, syrop glukozowy, askorbinian sodu, DL- $\alpha$ -tokoferol); 0,25–1% (m/m)	ABTS	folia GAR/GEL wykazywała większą zdolność neutralizacji rodników ABTS aniżeli folia WSSP/GEL; folie zawierające astaksantynę miały czerwoną barwę	Łupina i in. 2021
GEL + glicerol	kurkumina (0,25–1,5% w przeliczeniu na GEL) + laurylosiarczan sodu	ABTS, DPPH	inkorporacja kurkuminy (1,5%) do folii zwiększyła zdolność neutralizacji rodników ABTS z 12,9% do 88,1%	Roy i Rhim 2020
CHIT + glicerol	wanilina; 25–50% (m/m) ilości CHIT	DPPH	liniowy wzrost właściwości przeciwrodnikowych folii; wanilina jako czynnik sieciujący zwiększyła sztywność folii	Tomadoni i in. 2019
MC	nanokapsułki $\alpha$ -tokoferolu; 30, 50 i 70%	ABTS, DPPH	liniowy wzrost właściwości przeciwrodnikowych folii; pomimo kapsułkowania, $\alpha$ -tokoferol szybko migrował się z folii do 95% etanolu (płyn modelowy imitujący żywność wysokotłuszczową)	Noronha i in. 2014
CHIT	procyjanidyna; 0,05–0,2%	ABTS, DPPH	ponad dwukrotny wzrost aktywności przeciwrodnikowej w porównaniu z folią kontrolną; barwa folii z procyjanidyną uzależniona była od pH środowiska	Zhang i in. 2021a
CHIT	nanocząstki cynk/kwas galusowy; 30, 50 i 70 mg	ABTS, DPPH	inkorporacja nanocząstek w skład folii zwiększyła zdolność neutralizacji rodników ABTS z 48,96% do 76,38– 83,43%	Yadav i in. 2021
CHIT/GEL rybia + glicerol	tyrozol, kwas ferulowy, kwas kawowy; 5% (m/m)	DPPH	folia inkorporowana tyrozolem nie wykazywała znaczącej zdolności neutralizacji wolnych rodników DPPH (6%); folia zawierająca kwas ferulowy słabiej neutralizowała wolne rodniki (82% po 50 godz.) aniżeli folie zawierające kwas kawowy (90% po 27 godz.) lub mieszaninę kwas kawowy/kwas ferulowy 1:1 (90% po 30 godz.)	Benbettaïeb i in. 2018

W ostatnich latach pojawiły się publikacje dotyczące otrzymywania folii jadalnych inkorporowanych barwnikami o właściwościach antyoksydacyjnych. Przykładowo folie inkorporowane ASX miały czerwoną barwę (Łupina i in. 2021), przypominającą tradycyjną powłokę serowarską. Wiadomym jest, że barwa antocyjanów zależy od pH środowiska, w jakim się one znajdują. W przypadku pH poniżej 7 (środowisko kwaśne) są one czerwone, a w pH obojętnym lub zasadowym ( $\text{pH} > 7$ ) mają barwę niebieską lub fioletową. Dlatego też inkorporacja antocyjanów umożliwiła otrzymanie folii wskaźnikowych reagujących na zmiany pH [Yong i in. 2019, Zhang i in. 2021a, 2021b]. Również folie zawierające kurkuminę, betalainy i polifenole herbaty zmieniały zabarwienie w funkcji pH [Yong i in. 2019, Etxabide i in. 2021]. Materiały takie nazywane są „inteligentnymi”, gdyż poprzez zmianę wyglądu mogą informować o zakwaszeniu lub alkalizacji żywności spowodowanej jej zepsuciem. Obecnie trwają badania nad możliwością zsynchronizowania zmiany barwy folii z okresem, po którym produkt spożywczy stanowi zagrożenie dla zdrowia. Przykładowo folie zawierające ekstrakt z zielonej herbaty wykorzystano m.in. do wizualnego monitorowania oznak psucia się surowca rybnego [Jamróz i in. 2019b]. Badania wykazały, że po upływie doby, folie zawierające ekstrakt zmieniły kolor, co związane było z przemianami barwnymi związków polifenolowych, głównie kwasu chlorogenowego, w następstwie uwalniania z karpia lotnych związków azotu (m.in. trimetyloaminy, dimetyloaminy oraz amoniaku). Podobnie folie inkorporowane ekstraktami z buraka, czarnego bzu i jeżyny umieszczono wewnątrz opakowania w celu kontroli świeżości makreli atlantyckiej (*Scomber scombrus*). Pomimo że instrumentalny pomiar ujawnił mierzalne zmiany wyróżników barwy folii, percepcja wzrokowa nie pozwoliła na ich wychycenie [Jamróz i in. 2019a]. Wskazuje to na zbyt niską czułość otrzymanych folii uniemożliwiającą ich skuteczne wykorzystanie jako wskaźników pH monitorujących oznaki psucia się ryby. Pomimo porażki aplikacyjnej, wyniki zachęcają do poszukiwań innych potencjalnych zastosowań dla naturalnych bioindykatorów kwasowo-zasadowych.

### **Wpływ dodatku przeciwutleniaczy na właściwości mechaniczne folii**

W wielu przypadkach wprowadzenie substancji dodatkowych (np. plastyfikatorów, lipidów, przeciwutleniaczy i konserwantów) do matrycy biopolimerowej powoduje zakłócenie oddziaływań typu polimer-polimer, co obniża spójność, a tym samym wytrzymałość mechaniczną i sprężystość folii. Zmiany te mają na ogół charakter liniowy, tj. ze wzrostem stężenia dodatku obserwuje się stopniowy spadek mierzonych wartości [Kowalczyk 2016].

Ponadto niektóre polarne przeciwutleniacze, jak np. AA, działają jak humektanty zwiększające zawartość wody, dając w konsekwencji materiał o zwiększonej plastyczności oraz o zmniejszonej wytrzymałości mechanicznej. Przykładowo w badaniach przeprowadzonych przez Kowalczyka [2016], test odporności na przebicie wykazał, że folia skrobiowa inkorporowana 2% dodatkiem AA, o zawartości wody = 8,74%, miała aż o 75% niższą wytrzymałość mechaniczną w porównaniu z próbą kontrolną (folia bez dodatku AA) o zawartość wody = 6,89%.

Wpływ dodatku przeciwutleniaczy na właściwości mechaniczne folii uzależniony jest w dużej mierze od rodzaju biopolimeru użytego do ich otrzymania. Zaobserwowano, że wprowadzenie EHE nie zmieniło wytrzymałości folii otrzymanych z OPS i SPI, podczas gdy istotnie obniżyło wytrzymałość mechaniczną folii z GEL i CMC. Przyczyną odmiennego wpływu EHE na cechy teksturalne folii mogą być oddziaływania ekstraktu z polimerami. GEL i celuloza swoją dobrą wytrzymałość mechaniczną zawdzięczają licznym między- i wewnątrzcząsteczkowym wiązaniom wodorowym, warunkującym gęste upakowanie łańcuchów polimerowych w przestrzeni. Możliwe jest zatem, że w przypadku tych polimerów inkorporacja EHE ograniczyła zbliżenie makrocząsteczek i tym samym powstawanie silnych wiązań pomiędzy łańcuchami. Z kolei OPS i SPI to mieszaniny polimerów o różnej masie cząsteczkowej i budowie (skrobia zbudowana jest z liniowej amylozy i rozgałęzionej amylopektyny, zaś w nasionach soi występuje szereg białek o różnych masach cząsteczkowych) o teoretycznie mniejszych możliwościach kohezji w porównaniu z CMC i GEL. Mniej uporządkowana budowa przestrzenna OPS i SPI najprawdopodobniej sprawia, że ich przestrzenna konformacja jest mniej wrażliwa na obecność substancji dodatkowych. Inkorporacja EHE nie miała istotnego wpływu na rozciągliwość folii, jednakże w większości przypadków obserwowano spadek elastyczności materiału.

Poprawa spójności mechanicznej po wprowadzeniu związku przeciwutleniającego jest stosunkowo rzadkim zjawiskiem. Efekt taki zaobserwowano w przypadku wprowadzenia waniliny do folii chitozanowej, która działając sieciująco na polimer zwiększyła sztywność matrycy [Tomadoni i in. 2019]. Podobne działanie zaobserwowano w przypadku kwasu ferulowego wprowadzonego do folii z SPI [Ou i in. 2005]. W innych badaniach dodatek procyanidyny zwiększył wytrzymałość mechaniczną folii chitozanowej, z 48,88 do 65,43 MPa, co według autorów było spowodowane wytworzeniem wiązań wodorowych (z udziałem grup –OH tego związku) w roztworze foliotwórczym [Zhang i in. 2021a].

### **Wpływ dodatku przeciwutleniaczy na właściwości barierowe folii**

Powszechnie wiadomo, że żywność jest bardzo wrażliwa na warunki otaczającego je środowiska. Produkty spożywcze oddają zawartą w sobie wodę do suchego powietrza lub absorbują wilgoć ze zbyt wilgotnego otoczenia. Ubytek wody z produktów żywnościowych to w konsekwencji ubytek masy oraz pogorszenie jakości produktu. Pożądane jest zatem, aby folie jadalne posiadały jak największą barierowość w stosunku do pary wodnej. Przewodność, wprowadzone nawet w małej ilości mogą znacząco zmienić szybkość przenikania pary wodnej (ang. water vapor permeability, WVP) przez folie. Przykładowo dodatek apolarnych przeciwutleniaczy stwarza możliwość obniżenia WVP [Ortiz i in. 2018]. Inkorporacja lipofilnego składnika nie zawsze jednak gwarantuje możliwość otrzymania materiału o poprawionych właściwościach zaporowych w stosunku do pary wodnej [Kowalczyk i Baraniak 2014; Kowalczyk i in. 2016]. Jak pokazały badania przeprowadzone przez Łupinę i in. [2020], dodatek

AP na poziomie 1–2% obniżył o około 25% WVP folii otrzymanej z mieszaniny GAR i GEL, nie zmienił jednak WVP folii otrzymanej z mieszaniny skrobi typu OSA i GEL. W przypadku folii otrzymanej z mieszaniny WSSP i GEL istotne obniżenie WVP odnotowano tylko po 1% inkorporacji AP, co wskazuje że istnieje optymalne stężenie przeciwutleniacza, pozwalające uzyskać najlepsze właściwości barierowe. Tłumaczone jest to faktem, że duże dawki substancji dodatkowych mogą powodować powstanie licznych nieciągłości w sieci biopolimerowej, które stanowią kanały ułatwiające przenikanie cząsteczkom wody.

## **Właściwości przeciwutleniające aktywnych folii jadalnych**

Ponieważ liczne związki oraz ich kompozycje (w tym ekstrakty) mogą znaleźć zastosowanie w modyfikacji materiałów biopolimerowych w kierunku nadania im właściwości przeciwutleniających (tab. 2–4), poniżej przytoczone zostaną tylko wybrane przykłady badań (głównie własnych obserwacji) z bogatego piśmiennictwa na ten temat.

### **Testy *in vitro***

Istnieje szereg metod pomiaru właściwości przeciwutleniających [Cybul i Nowak 2008]. Najczęściej aktywność przeciwutleniającą folii oznacza się w warunkach modelowych (prowadzonych poza organizmami żywymi) poprzez pomiar zdolności zmiatania trwałych syntetycznych rodników 2,2-azynobis 3-etylobenzotiazolino-6-sulfonianu (ABTS) lub 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazylu (DPPH). Rzadziej stosowana jest metoda oznaczania zdolności redukcjonowania jonów żelaza (ang. ferric ion reducing antioxidant parameter/potential/power – FRAP), która pozwala na bezpośrednie określenie zdolności redukujących próbki materiału (tab. 2–4).

Wiele, jeśli nie wszystkie właściwości biologiczne AA związane są z jego właściwościami redox. Badania porównawcze wykazały, że rodzaj biopolimerowego nośnika, w tym przede wszystkim jego powinowactwo do wody, odgrywa kluczową rolę w kształtowaniu zdolności przeciwutleniających folii aktywowanych AA [Kowalczyk 2016]. Folie otrzymane z CMC i SPI, jako materiały dobrze rozpuszczalne w wodzie, cechowały się wyższymi wartościami FRAP oraz wyższym potencjałem antyrodnikowym aniżeli folie uzyskane z OPS i GEL, które były tylko częściowo rozpuszczalne i posiadały znaczną zdolność pęcznienia w wodzie. Dlatego też różnice w aktywności przeciwutleniającej aktywnych folii bezpośrednio odzwierciedlają zdolność uwalniania przez nie AA. Folia żelatynowa, z uwagi na najintensywniejsze pęcznienie w wodzie, najwolniej uwalniała AA i tym samym posiadała najniższą siłę redukcji oraz zdolność zmiatania rodników ABTS. Ponadto AA był najmniej stabilny w folii żelatynowej, co również mogło przyczynić się do niskiej aktywności przeciwu-

tleniającej. Folie bez dodatku AA wykazywały tylko nieznaczną zdolność neutralizowania rodników ABTS ( $\approx 0.08 \mu\text{g Trolox/cm}^2$ ), która po 2% poziomie inkorporacji AA wzrosła 12–16-krotnie. Analogicznie folie kontrolne otrzymane z CMC, OPS i GEL tylko w niewielkim stopniu przeciwdziałały utlenianiu kwasu linolowego w układzie modelowym, zapewniając 3,4–5,9% stopień inhibicji. Na uwagę zasługuje fakt, że folia kontrolna otrzymana z SPI, w odróżnieniu od pozostałych matryc o znikomej własnej aktywności antyoksydacyjnej, wykazywała zdolność chelatowania metali prooksydacyjnych, a także umiarkowaną aktywność antyperoksydacyjną (wynoszącą 32,3%). Tłumaczyć to można m.in. właściwościami przeciwutleniającymi i powierzchniowo-czynnymi białek. Możliwe, że w modelowym układzie emulsyjnym cząsteczki rozpuszczonych białek soi otoczkowały kropelki kwasu linolowego, co przeciwdziało ich utlenianiu. 0,5% dodatek AA zwiększył potencjał antyperoksydacyjny folii, a w szczególności materiałów z niską aktywnością początkową (tj. otrzymanych z CMC, OPS i GEL). Wykazano, że przy zastosowaniu średniego i wyższego stopnia inkorporacji AA (1,0–2,0%) folie nie różniły się pod względem aktywności peroksydacyjnej ( $\approx 70\%$ ), co związane było z wysyceniem układu pomiarowego przeciwutleniaczem [Kowalczyk 2016].

ASX jest silniejszym przeciwutleniaczem niż AA,  $\beta$ -karoten czy  $\alpha$ -tokoferol. Jako „zmiatacz” reaktywnych form tlenu (tlen singletowy, rodniki nadtlenkowe, nadtlenoazotyn, podchloryn), ASX zapobiega utlenianiu błon biologicznych i peroksydacji lipidów *in vivo* [Sieradzka i Kołodziejczyk-Czepas 2016]. Badania przeprowadzone przez Łupina i in. [2021] wykazały, że czas połowicznego uwalniania ( $t_{50\%}$ ) wodnorozpuszczalnej ASX (wprowadzonej do roztworów foliotwórczych w postaci komercyjnego preparatu AstaSana na trzech poziomach inkorporacji (0,25, 0,5 i 1%) z dwuskładnikowej folii otrzymanej z mieszaniny WSSP i GEL (w stosunku 75:25) był około 4 razy dłuższy ( $t_{50\%} = 65,16\text{--}142,80$  min) aniżeli w przypadku folii otrzymanej z mieszaniny GAR i GEL ( $t_{50\%} = 14,64\text{--}34,02$  min). Spowodowane to było głównie słabszą rozpuszczalnością folii WSSP/GEL w wodzie. W konsekwencji folia GAR/GEL wykazywała większą zdolność neutralizacji rodników ABTS (czas ćwierć neutralizacji ABTS ( $t_{25\%ABTS}$ ) = 0,22–7,51 min) aniżeli folia WSSP/GEL ( $t_{25\%ABTS} = 0,91\text{--}12,94$  min). Migracja związku przeciwutleniającego do produktu powinna zachodzić w sposób kontrolowany. Uważa się, że szybkie uwalnianie przeciwutleniaczy z folii zapewnia wysoką aktywność w testach *in vitro*, z drugiej zaś strony powoduje szybkie wyczerpanie aktywności materiału w warunkach aplikacyjnych. Folia zawierająca WSSP wykazywała stosunkowo stałe tempo uwalniania ASX, co może być korzystne w przypadku długotrwałego przechowywania produktów spożywczych.

Folie inkorporowane naturalnymi związkami aktywnymi nie utrzymują stabilnego potencjału antyoksydacyjnego [Kowalczyk 2016, Kowalczyk i in. 2021]. Badania kinetyki degradacji AA w foliach w czasie ich dwutygodniowego przechowywania, wykazały że nośniki hamują rozkład AA w następującej kolejności: OPS > SPI > CMC > GEL [Kowalczyk 2016]. Folia uzyskana z OPS zapewniała największą stabilność AA, co najprawdopodobniej spowodowane jest jej

niskim pH (2,7–4,8, w zależności od stężenia AA) oraz niską zawartością wody (6,9–8,7%). Wiadomym jest, że stężenie jonów wodorowych decyduje o obecności różnych form jonowych AA, różniących się podatnością na degradację oksydacyjną. Uprotonowana forma, która występuje przy niskim pH, jest stosunkowo stabilna. W miarę jak pH zbliża się do pierwszej stałej dysocjacji ( $pK_{a1}$ ) AA (4,04) stabilność spada. Z kolei duża zawartość wody w materiale powoduje wzrost stężenia rozpuszczonego tlenu, zwiększa rozpuszczalność i mobilność czynników o działaniu prooksydacyjnym, a także przyczynia się do pęcznienia matrycy i ekspozycji nowych centrów katalitycznych. Większa zawartość wody sprzyja ponadto nieodwracalnej hydrolitycznej degradacji kwasu dehydroaskorbinowego do kwasu 2,3-diketogulonowego – związku biologicznie nieaktywnego. Folie otrzymane z SPI charakteryzowały się mniejszą zawartością wody niż folie z CMC i GEL, co także może być przyczyną ich stosunkowo dobrego działania ochronnego w stosunku do AA. Ponadto folie z SPI charakteryzuje stosunkowo niska przepuszczalność tlenu [Krochta 2002, McHugh i Krochta 1994]. W prezentowanej pracy folie przechowywane były w warunkach otoczenia, można zatem przypuszczać, że właściwości barierowe polimerów w stosunku do tlenu również odegrały istotną rolę w stabilizacji AA. Wraz ze wzrostem stężenia AA obserwowano spowolnienie tempa jego degradacji, co było związane z wzrastającym zakwaszeniem folii, sprzyjającym stabilizacji AA [Kowalczyk 2016].

W wielu zastosowaniach wadą folii inkorporowanych AA może być ich kwaśny odczyn ( $pH \approx 3$ ) [Kowalczyk 2016, Kowalczyk i in. 2018]. Przykładowo, smak orzechów włoskich powlekanych emulsją CMC/wosk kandelila zawierającą 1% dodatek AA został negatywnie oceniony przez panel sensoryczny [Kowalczyk i in. 2017]. Z tego powodu zaproponowano recepturę folii skrobiowych inkorporowanych SA, czyli tzw. buforowaną witaminą C. Pod względem rozpuszczalności w wodzie, zdolności uwalniania jonów askorbinianowych oraz potencjału przeciwutleniającego, folie zawierające SA nie różniły się od tych zawierających AA [Kowalczyk i in. 2018]. Zaletą folii z SA była znacznie wolniejsza rekrytalizacja przeciwutleniacza oraz tworzenie mniejszych kryształów w czasie przechowywania materiałów o średniej i największej zawartości jonów askorbinianowych (50 i 100 mM). Co ciekawe folie (a raczej powłoki) zawierające SA, nie oddzielone od powierzchni, na których zostały uformowane, nie wykazywały oznak rekrytalizacji. Niestety wyższe pH folii skrobiowych domieszkowanych SA (6,24–6,63) przyczyniło się do ich szybszego brązowienia wskazującego na znaczną degradację askorbinianu. Wynika to m.in. z faktu, że w wyższym pH witamina C intensywnie pochłania tlen [Janjarasskul i in. 2013].

### **Testy *in vivo***

Wykazanie właściwości przeciwutleniających opakowań aktywnych w warunkach *in vitro* nie gwarantuje, że mają one potencjał aplikacyjny w przemyśle



spożywcym. Ostatecznym sprawdzianem nowo zaprojektowanych opakowań jest ocena wpływu ich właściwości użytkowych na jakość przechowalniczą zapakowanych produktów. Wyniki wielu badań wskazują, że jadalne powłoki biopolimerowe nanoszone techniką zanurzeniową mogą spowalniać utlenianie lipidów w żywności. Takie działanie często wynika z synergistycznego powiązania właściwości barierowych powłoki w stosunku do tlenu oraz aktywnego oddziaływania wprowadzonego dodatku przeciwutleniającego.

Popularnym markerem szybkości utleniania lipidów jest monitorowanie zmian zawartości substancji dających reakcję barwną z kwasem 2-tiobarbiturowym (TBARS). Na podstawie pomiaru wartości tego wskaźnika Cruz i in. [2021] wykazali, że zabezpieczenie filetów rybich (*Colossoma macropomum*) powłoką z alginianu sodu inkorporowanego ekstraktem z zielonego propolisu (produkt zbierany przez pszczoły z rośliny *Baccharis dracunculifolia* rosnącej w Amazonii) przedłużyło ich trwałość o 7 dni. Po 15 dniach chłodniczego przechowywania wskaźnik TBARS dla powlekanego surowca osiągnął wartość  $1,17 \pm 0,40$  mg ekwiwalentów aldehydu dimalonowego/kg (MDA eq/kg), podczas gdy surowiec niepowlekaną już po 10 dniach składowania miał TRARS na poziomie  $2,04 \pm 0,15$  mg MDA eq/kg). Po 30 dniach składowania wskaźnik TRARS oznaczony dla surowca powlekanego był o ponad połowę niższy w porównaniu z próbą kontrolną. Należy nadmienić, iż powłoka stanowiła tylko tzw. opakowanie pierwotne, a filety składowane były na polietylenowych tacach owiniętych folią z polichlorku winylu (PVC) stanowiących opakowanie wtórne.

Inne przykłady powłok o działaniu przeciwutleniającym, w tym korzyści wynikające z ich zastosowania zostały zsumowane w tabeli 5.

Jak można zauważyć, w ciągu lat kompozycje powłokotwórcze stały się coraz bardziej multikomponentowe i wszechstronne, tj. posiadają działanie nie tylko antyoksydacyjne, ale również przeciwmikrobiologiczne.

## Podsumowanie

Przedstawione wybrane dane z bogatego piśmiennictwa z zakresu otrzymywania i właściwości folii i powłok jadalnych o działaniu przeciwutleniającym wskazują na potrzebę dalszych badań nad skutkami oddziaływań białek i polisacharydów z substancjami o działaniu przeciwutleniającym. Opakowania aktywne stanowią przyszłość opakowalnictwa żywności. Ich szersze wykorzystanie do przedłużania trwałości produktów spożywczych zależy jednak od postępu w doskonaleniu właściwości funkcjonalno-użytkowych folii i powłok jadalnych. Badania nad interakcjami pomiędzy składnikami matrycy a składnikami aktywnymi będą miały istotne znaczenie dla kontynuacji przyszłych prac.

Tabela 5. Przykłady zastosowań folii i powłok jadalnych inkorporowanych związkami o działaniu przeciwutleniającym

Produkt	Składniki folio-/powłokotwórcze	Składnik przeciwutleniający; stężenie w roztworze folio-/powłokotwórczym	Metoda pomiaru działania przeciwutleniającego	Obserwacje	Źródło
Mięso wołowe przechowywane w temperaturze 4°C	WPI, nanowłókna białka serwatkowego (WPNF) + nanorurki tlenku tytanu (TNT) + glicerol	–	TBARS	wartości TBARS mięsa zabezpieczonego powłoką WPNF były niższe (0,94–1,03 mg MDA/kg) aniżeli próbek niepowlekanych lub powlekanych WPI (2,33–2,52 mg MDA/kg); powłoka WPNF z dodatkiem TNT ograniczyła wzrost mikroorganizmów	Feng i in. 2019
Kostki sera sycylijskiego zapakowane w pojemniki z polipropylenu; przechowywane w temperaturze 4°C	alginian sodu + glicerol	olejek z nasion biedrzyńca mniejszego ( <i>Pimpinella saxifraga</i> ) – gatunek rośliny z rodziny selerowatych; 2–3%	TBARS	zawartość MDA w serze niepowlekany, powlekany alginianem sodu oraz powlekany alginianem sodu z 2 i 3% dodatkiem olejku wynosiła odpowiednio 43,7; 34,0; 16,0 i 11,7 µg MDA/100 g; powlekanie ograniczyło wzrost mikroorganizmów	Ksouda i in. 2019
Udka kurczaka (gotowe do spożycia) przechowywane w temperaturze 4°C przez 16 dni	GEL + CHIT + glicerol + Tween 80 + ε-poly-L-lizyna (środek o działaniu przeciwmikrobiologicznym)	ekstrakt rozmarynu (0,5 g) rozpuszczony w oleju z zarodków nasion kukurydzy (100 ml); 2%	TBARS, TVB-N (ogólny lotny azot zasadowy)	okres przechowywania kurczaka powlekanego nanoemulsją został przedłużony o co najmniej 6 dni w porównaniu z kontrolą	Huang i in. 2020
Kostki z piersi kurczaka zapakowane w pojemniki z polistyrenu; przechowywane w temperaturze 4°C	guma z nasion bazylii + glicerol+ Tween 80	olejek z cząbrzy (SEO), olejek z tymianku Shirazi (TEO) i ich mieszanina w stosunku 1:1; 1–2%	TVB-N, PV (liczba nadtlenkowa), TBARS	efekt przeciwutleniający powłoki zawierającej TEO był silniejszy aniżeli powłoki z dodatkiem SEO; powlekanie ograniczyło wzrost mikroorganizmów	Majdinasab i in. 2020

Orzechy włoskie przechowywane bez dostępu światła w temperaturze 40°C	białko orzechów włoskich (WFC) + glicerol	ekstrakt polifenoli z orzecha (0,1% w/w) i butylohydroksytoluen (BHT)	PV, CD (zawartość sprzężonych dienów)	po 84 dniach składowania, PV orzechów powlekanych WFC, WFC z dodatkiem polifenoli oraz WFC z dodatkiem BHT wynosiła odpowiednio 6,23; 3,64 i 2,57 <i>milirównoważników</i> aktywnego tlenu/kg oleju (meq O <sub>2</sub> /kg)	Grosso i in. 2020
Orzechy włoskie przechowywane przez 210 dni w temperaturze 23°C	CMC, MC, WPI + glicerol	–	PV, CD, CT (zawartość sprzężonych trienów)	powłoka z MC zapewniła najlepszy efekt ochronny (PV =1,20 meqO <sub>2</sub> /kg, podczas gdy PV orzechów niepewlekanych wynosiło 3,06 meqO <sub>2</sub> /kg)	Grosso i in. 2018
Mięso wieprzowe przechowywane (4°C, 7 dni) na tacach z polistyrenu owiniętych folią polietylenową	alginian sodu + CMC	epigalokatechina; 0,8–1,5 % m/v	TBARS, TVB-N	im wyższa zawartość epigalokatechiny w powłoce, tym mniejsza wartość TBARS mięsa	Ruan i in. 2019
Prażone pistacje przechowywane przez 3 miesiące	GEL + glicerol	AA; 1% w/v galusan propylu; 1% w/v	PV, liczba anizydynoiwa (AV)	powłoka zawierająca AA zredukowała o 40, 37 i 19% tempo utleniania orzechów przechowywanych w temperaturze 20, 35 i 50°C	Khoshnoudi-Nia i Sedaghat 2019
Plasterkowany ser Prato przechowywany (4°C, 10 dni) na tacach z polistyrenu owiniętych folią PCV	GEL + CHIT + glicerol	ekstrakt liści <i>Peumus boldus</i> ; 1% v/v	PV	plasterki sera pokryte folią GEL/CHIT z dodatkiem ekstraktu wykazywały niższą wartość PV (1,80 meq O <sub>2</sub> /kg) w porównaniu z próbą niezabezpieczoną folią (4,15 meq O <sub>2</sub> /kg)	Bonilla i Sobral 2019
Filety pstrąga tęczowego przechowywane (4°C, 15 dni) na tacach owiniętych folią stretch	GEL + glicerol/sorbitol	etanolowy ekstrakt propolisu; 2–16% v/m w przeliczeniu na GEL	PV, TBARS, TVB-N	mniejsze wartości PV, TBARS i TVB-N mięsa owiniętego w folie z dodatkiem ekstraktu w porównaniu z mięsem nieowiniętym i mięsem owiniętym folią niezawierającą dodatku propolisu; owinięcie ograniczyło wzrost mikroorganizmów	Ucak i in. 2020

## Piśmiennictwo

- Adilah Z.A. M., Jamilah B., Nur Hanani Z.A., 2017. Functional and antioxidant properties of protein-based films incorporated with mango kernel extract for active packaging. *Food Hydrocoll.* 74, 207–218, <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2017.08.017>
- Aitken A., Learmonth M.P., 2009. Protein Determination by UV Absorption. W: J.M. Walker (red.), *The Protein Protocols Handbook*. Human Press, Totowa, 3–6. <https://doi.org/10.1385/1-59259-169-8:3>
- Aloui H., Deshmukh A.R., Khomlaem C., Kim B.S., 2021. Novel composite films based on sodium alginate and gallnut extract with enhanced antioxidant antimicrobial barrier and mechanical properties. *Food Hydrocoll.* 113, 106508. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2020.106508>
- Ballester-Costa C., Sendra E., Fernández-López J., Viuda-Martos M., 2016. Evaluation of the antibacterial and antioxidant activities of chitosan edible films incorporated with organic essential oils obtained from four *Thymus* species. *J. Food Sci. Technol.* 538, 3374–3379. <https://doi.org/10.1007/s13197-016-2312-y>
- Benbettaïeb N., Tanner C., Cayot P., Karbowiak T., Debeaufort F., 2018. Impact of functional properties and release kinetics on antioxidant activity of biopolymer active films and coatings. *Food Chem.* 242, 369–377, <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.09.065>
- Benbettaïeb N., Debeaufort F., Karbowiak T., 2019a. Bioactive edible films for food applications: mechanisms of antimicrobial and antioxidant activity. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 59(21), 3431–3455. <https://doi.org/10.1080/10408398.2018.1494132>
- Benbettaïeb N., Karbowiak T., Debeaufort F., 2019b. Bioactive edible films for food applications: Influence of the bioactive compounds on film structure and properties. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 59(7), 1137–1153, <https://doi.org/10.1080/10408398.2017.1393384>
- Bonilla J., Sobral P.J.A., 2019. Gelatin-chitosan edible film activated with Boldo extract for improving microbiological and antioxidant stability of sliced Prato cheese. *Int. J. Food Sci. Technol.* 54(5), 1617–1624, <https://doi.org/10.1111/ijfs.14032>
- Cao T.L., Song K.B., 2019. Effects of gum karaya addition on the characteristics of loquat seed starch films containing oregano essential oil. *Food Hydrocoll.* 97, 105198, <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2019.105198>
- Chen W., Ma S., Wang Q., McClements D., Xuebo L., Ngai T., Liu F., 2021. Fortification of edible films with bioactive agents: a review of their formation properties and application in food preservation. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 1–27, <https://doi.org/10.1080/10408398.2021.1881435>
- Cruz A., Costa M., Mafra J., Ferreira M., Miranda F., Costa J., Wantanabe Y.N., Ribeiro P.R., Araújo F.M., Evangelista-Barreto N., 2021. A sodium alginate bilayer coating incorporated with green propolis extract as a powerful tool to extend *Collossoma macropomum* fillet shelf-life. *Food Chem.* 355, 129610. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.129610>
- Cybul M., Nowak R., 2008. Przegląd metod stosowanych w analizie właściwości antyoksydacyjnych wyciągów roślinnych. *Herba Pol.* 54(1), 68–78.
- Eça K.S., Sartori T., Menegalli F.C., 2014. Films and edible coatings containing antioxidants – a review. *Braz. J. Food Technol.* 17(2), 98–112, <https://doi.org/10.1590/bjft.2014.017>
- Etxabide A., Maté J.I., Kilmartin P.A., 2021. Effect of curcumin betanin and anthocyanin containing colourants addition on gelatin films properties for intelligent films development. *Food Hydrocoll.* 115, 106593, <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2021.106593>
- Feng Z. Li L., Wang Q., Wu G., Liu C., Jiang B., Xu J., 2019. Effect of antioxidant and antimicrobial coating based on whey protein nanofibrils with TiO<sub>2</sub> nanotubes on the quality and shelf life of chilled meat. *Int. J. Mol. Sci.* 20(5), 1184, <https://doi.org/10.3390/ijms20051184>
- Ghani S., Barzegar H., Noshad M., Hojjati M., 2018. The preparation characterization and *in vitro* application evaluation of soluble soybean polysaccharide films incorporated with cinnamon essential oil nanoemulsions. *Int. J. Biol. Macromol.* 112, 197–202, <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.01.145>
- Gómez-Estaca J., Bravo L., Gómez-Guillén M.C., Alemán A., Montero P., 2009. Antioxidant properties of tuna-skin and bovine-hide gelatin films induced by the addition of oregano and rosemary extracts. *Food Chem.* 112, 18–25, <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.05.034>

- Grosso A.L., Asensio C.M., Nepote V., Grosso N.R., 2018. Quality preservation of walnut kernels using edible coatings. *Grasas y Aceites* 69, 1–9, <https://doi.org/10.3989/gya.0350181>
- Grosso A.L., Riveros C., Asensio C.M., Grosso N.R., Nepote V., 2020. Improving walnuts' preservation by using walnut phenolic extracts as natural antioxidants through a walnut protein-based edible coating. *J. Food Sci.* 85(10), 3043–3051, <https://doi.org/10.1111/1750-3841.15395>
- Han H.S., Song K.B., 2021. Noni *Morinda citrifolia* fruit polysaccharide films containing blueberry *Vaccinium corymbosum* leaf extract as an antioxidant packaging material. *Food Hydrocoll.* 112, 106372, <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2020.106372>
- Hashemi M., Hashemi M., Daneshamooz S., Raeisi M., Jannat B., Taheri S., Noori S.M. A., 2020. An overview on antioxidants activity of polysaccharide edible films and coatings contains essential oils and herb extracts in meat and meat products. *Adv. Anim. Vet.* 82, 198–207, <https://doi.org/10.17582/journal.aavs/2020/8.2.198.207>
- Huang M., Wang H., Xu X., Lu X., Song X., Zhou G., 2020. Effects of nanoemulsion-based edible coatings with composite mixture of rosemary extract and  $\epsilon$ -poly-L-lysine on the shelf life of ready-to-eat carbonado chicken. *Food Hydrocoll.* 102, 105576, <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2019.105576>
- Jamróz E., Kulawik P., Guzik P., Duda I., 2019a. The verification of intelligent properties of furcellaran films with plant extracts on the stored fresh Atlantic mackerel during storage at 2°C. *Food Hydrocoll.* 97, 105211, <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2019.105211>
- Jamróz E., Kulawik P., Krzyściak P., Talaga-Ćwiertnia K., Juszcak L., 2019b. Intelligent and active furcellaran-gelatin films containing green or pu-erh tea extracts: Characterization antioxidant and antimicrobial potential. *Int. J. Biol. Macromol.* 122, 745–757, <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.11.008>
- Janjarasskul T., Min S.C., Krochta J.M., 2013. Triggering mechanisms for oxygen-scavenging function of ascorbic acid-incorporated whey protein isolate films. *J. Sci. Food Agric.* 93(12), 2939–2944, <https://doi.org/10.1002/jsfa.6120>
- Kalkan S., Otağ M.R., Engin M.S., 2020. Physicochemical and bioactive properties of edible methylcellulose films containing *Rheum ribes* L. extract. *Food Chem.* 307, 125524, <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125524>
- Khoshnoudi-Nia S., Sedaghat N., 2019. Effect of active edible coating and temperature on quality properties of roasted pistachio nuts during storage. *J. Food Process.* 43(10), 1–10, <https://doi.org/10.1111/jfpp.14121>
- Kowalczyk D., 2016. Biopolymer/candelilla wax emulsion films as carriers of ascorbic acid – A comparative study. *Food Hydrocoll.* 52, 543–533, <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2015.07.034>
- Kowalczyk D., Baraniak B., 2014. Effect of candelilla wax on functional properties of biopolymer emulsion films – A comparative study. *Food Hydrocoll.* 41, 195–209, <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2014.04.004>
- Kowalczyk D., Biendl M., 2016. Physicochemical and antioxidant properties of biopolymer/candelilla wax emulsion films containing hop extract – A comparative study. *Food Hydrocoll.* 60, 384–392, <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2016.04.010>
- Kowalczyk D., Kazimierzak W., Zięba E., Mężynska M., Basiura-Cembala M., Lisiecki S., Karas M., Baraniak B., 2018. Ascorbic acid- and sodium ascorbate-loaded oxidized potato starch films: Comparative evaluation of physicochemical and antioxidant properties. *Carbohydr. Polym.* 181, 317–326, <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2017.10.063>
- Kowalczyk D., Kordowska-Wiater M., Nowak J., Baraniak B., 2015. Characterization of films based on chitosan lactate and its blends with oxidized starch and gelatin. *Int. J. Biol. Macromol.* 77, 350–359, <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2015.03.032>
- Kowalczyk D., Szymanowska U., Skrzypek T., Basiura-Cembala M., Łupina K., Biendl M., 2021. Edible films based on gelatin carboxymethyl cellulose and their blends as carriers of potassium salts of iso- $\alpha$ -acids: Structural physicochemical and antioxidant properties. *Food Hydrocoll.* 115, 2020, <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2020.106574>
- Kowalczyk D., Zięba E., Skrzypek T., Baraniak B., 2017. Effect of carboxymethyl cellulose/candelilla wax coating containing ascorbic acid on quality of walnut *Juglans regia* L. kernels. *Int. J. Food Sci. Technol.* 52(6), 1425–1431, <https://doi.org/10.1111/ijfs.13420>

- Kowalczyk D., Gustaw W., Zieba E., Lisiecki S., Stadnik J., Baraniak B., 2016. Microstructure and functional properties of sorbitol-plasticized pea protein isolate emulsion films: Effect of lipid type and concentration. *Food Hydrocoll.* 60, 353–363, <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2016.04.006>
- Krochta J.M., 2002. Proteins as raw materials for films and coatings: definitions, current status, and opportunities. W: A. Gennadios (red.), *Protein-based films and coatings*. CRC Press, Boca Raton, FL ,1–41.
- Ksouda G., Sellimi S., Merlier F., Falcimaigne-Cordin A., Thomasset B., Nasri M., Hajji M., 2019. Composition, antibacterial and antioxidant activities of *Pimpinella saxifraga* essential oil and application to cheese preservation as coating additive. *Food Chem.* 288, 47–56, <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.02.103>
- López-Mata M.A., Ruiz-Cruz S., Silva-Beltrán N.P. Ornelas-Paz J. de J., Ocaño-Higuera V.M., Rodríguez-Félix F., Cira-Chávez L.A., Del-Toro-Sánchez C.L., Shirai K., 2015. Physicochemical and antioxidant properties of chitosan films incorporated with cinnamon oil. *Int. J. Polym. Sci.*, article ID 974506, <https://doi.org/10.1155/2015/974506>
- Lupina K., Kowalczyk D., Drozłowska E., 2020. Polysaccharide/gelatin blend films as carriers of ascorbyl palmitate – A comparative study. *Food Chem.* 333, 127465, <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.127465>
- Lupina K., Kowalczyk D., Kazimierczak W., 2021. Gum Arabic/gelatin and water-soluble soy polysaccharides/gelatin blend films as carriers of astaxanthin-a comparative study of the kinetics of release and antioxidant properties. *Polymers* 13(7), 1062. <https://doi.org/10.3390/polym13071062>
- Majdinasab M., Niakousari M., Shaghaghian S., Dehghani H., 2020. Antimicrobial and antioxidant coating based on basil seed gum incorporated with Shirazi thyme and summer savory essential oils emulsions for shelf-life extension of refrigerated chicken fillets. *Food Hydrocoll.* 108, 106011, <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2020.106011>
- McHugh T.H., Krochta J.M., 1994. Permeability properties of edible films. W: J.M. Krochta, E.A. Baldwin, M.O. Nisperos-Carriedo (red.), *Edible coatings and films to improve food quality*. Technomic Publishing, Lancaster, 139–187.
- Mehyar G.F., Al-Ismael K., Han J.H., Chee G.W., 2012. Characterization of edible coatings consisting of pea starch whey protein isolate and carnauba wax and their effects on oil rancidity and sensory properties of walnuts and pine nuts. *J. Food Sci.* 77(2), 52–59, <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2011.02559.x>
- Norajit K., Kim K.M., Ryu G.H., 2010. Comparative studies on the characterization and antioxidant properties of biodegradable alginate films containing ginseng extract. *J. Food Eng.* 98(3), 377–384, <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2010.01.015>
- Noronha C.M., De Carvalho S.M., Lino R.C., Barreto P.L.M., 2014. Characterization of antioxidant methylcellulose film incorporated with  $\alpha$ -tocopherol nanocapsules. *Food Chem.* 159, 529–535, <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.02.159>
- Ortiz C.M., Salgado P.R., Dufresne A., Mauri A.N., 2018. Microfibrillated cellulose addition improved the physicochemical and bioactive properties of biodegradable films based on soy protein and clove essential oil. *Food Hydrocoll.* 79, 416–427, <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2018.01.011>
- Ou S., Wang Y., Tang S., Huang C., Jackson M.G., 2005. Role of ferulic acid in preparing edible films from soy protein isolate. *J. Food Eng.* 70(2), 205–210, <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2004.09.025>
- Piñeros-Hernandez D., Medina-Jaramillo C., López-Córdoba A., Goyanes S., 2017. Edible cassava starch films carrying rosemary antioxidant extracts for potential use as active food packaging. *Food Hydrocoll.* 63, 488–495, <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2016.09.034>
- Pires C., Ramos C., Teixeira B., Batista I., Nunes M.L., Marques A., 2013. Hake proteins edible films incorporated with essential oils: Physical mechanical antioxidant and antibacterial properties. *Food Hydrocoll.* 301, 224–231, <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2012.05.019>
- Priyadarshi R., Sauraj K.B., Deeba F., Kulshreshtha A., Negi Y.S., 2018. Chitosan films incorporated with Apricot *Prunus armeniaca* kernel essential oil as active food packaging material. *Food Hydrocoll.* 85, 158–166, <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2018.07.003>

- Rangaraj V.M., Rambabu K., Banat F., Mittal V., 2021. Effect of date fruit waste extract as an antioxidant additive on the properties of active gelatin films. *Food Chem.* 355, 129631, <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.129631>
- Rojas-Graü M.A., Soliva-Fortuny R., Martín-Belloso O., 2009. Edible coatings to incorporate active ingredients to fresh-cut fruits: a review. *Trends Food Sci. Technol.* 20(10), 438–447, <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2009.05.002>
- Roy S., Rhim J.W., 2020. Preparation of antimicrobial and antioxidant gelatin/curcumin composite films for active food packaging application. *Colloids Surf B Biointerfaces* 188, 110761, <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2019.110761>
- Ruan C., Zhang Y., Sun Y., Gao X., Xiong G., Liang J., 2019. Effect of sodium alginate and carboxymethyl cellulose edible coating with epigallocatechin gallate on quality and shelf life of fresh pork. *Int. J. Biol. Macromol.* 141, 178–184, <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.08.247>
- Saravani M., Ehsani A., Aliakbarlu J., Ghasempour Z., 2019. Gouda cheese spoilage prevention: Biodegradable coating induced by *Bunium persicum* essential oil and lactoperoxidase system. *Food Sci. Nutr.* 7(3), 959–968, <https://doi.org/10.1002/fsn3.888>
- Sieradzka M., Kołodziejczyk-Czepas J., 2016. Astaksantyna-karotenoidowy przeciwutleniacz o właściwościach kardioprotekcyjnych. *Probl. Hig. Epidemiol.* 97(3), 197–206. Retrieved from [www.phie.pl](http://www.phie.pl).
- Šuput D., Lazić V., Pezo L., Markov S., Vaštag Ž., Popović L., Radulović A., Ostojić S., Zlatanović S., Popović S., 2016. Characterization of starch edible films with different essential oils addition. *Polish J. Food Nutr. Sci.* 66(4), 277–285, <https://doi.org/10.1515/pjfn-2016-0008>
- Tomadoni B., Ponce A., Pereda M., Ansorena M.R., 2019. Vanillin as a natural cross-linking agent in chitosan-based films: Optimizing formulation by response surface methodology. *Polym. Test.* 78, 105935, <https://doi.org/10.1016/j.polymertesting.2019.105935>
- Ucak I., Khalily R., Carrillo C., Tomasevic I., Barba F.J., 2020. Potential of propolis extract as a natural antioxidant and antimicrobial in gelatin films applied to rainbow trout oncorhynchus mykiss fillets. *Foods* 9(11), 1584, <https://doi.org/10.3390/foods9111584>
- Vital A.C.P., Guerrero A., Monteschio J.D.O., Valero M.V., Carvalho C.B., De Abreu Filho B.A., Madrona G.S., Do Prado I.N., 2016. Effect of edible and active coating with rosemary and oregano essential oils on beef characteristics and consumer acceptability. *PLoS ONE* 11(8), 1–15, <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0160535>
- Voet D., Voet J.G., 2010. Protein folding, dynamics, and structural evolution. W: D. Voet, J.G. (red.), *Biochemistry*, 4th ed. John Wiley & Sons, Inc, USA, 278–322.
- Yadav S., Mehrotra G.K., Bhartiya P., Singh A., Dutta P.K., 2020. Preparation physicochemical and biological evaluation of quercetin based chitosan-gelatin film for food packaging. *Carbohydr. Polym.* 227, 115348, <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2019.115348>
- Yadav S., Mehrotra G.K., Dutta P.K., 2021. Chitosan based ZnO nanoparticles loaded gallic-acid films for active food packaging. *Food Chem.* 334, 127605, <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.127605>
- Yong H., Wang X., Zhang X., Liu Y., Qin Y., Liu J., 2019. Effects of anthocyanin-rich purple and black eggplant extracts on the physical antioxidant and pH-sensitive properties of chitosan film. *Food Hydrocoll.* 94, 93–104, <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2019.03.012>
- Zhang L. Liu Z., Sun Y., Wang X., Li L., 2020. Effect of  $\alpha$ -tocopherol antioxidant on rheological and physicochemical properties of chitosan/zein edible films. *Lwt* 118, 108799, <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.108799>
- Zhang L., Zhang Z., Chen Y., Ma X., Xia M., 2021a. Chitosan and procyanidin composite films with high antioxidant activity and pH responsivity for cheese packaging. *Food Chem.* 338, 128013, <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.128013>
- Zhang X., Zhao Y., Shi Q., Zhang Y., Liu J., Wu X., Fang Z., 2021b. Development and characterization of active and pH-sensitive films based on psyllium seed gum incorporated with free and microencapsulated mulberry pomace extracts. *Food Chem.* 352, 129333, <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.129333>





## Spis treści

Wstęp .....	5
-------------	---

### ROZDZIAŁ 1

<b>Technologie produkcji i przetwarzania mleka o podwyższonej zawartości składników bioaktywnych lub obniżające nadwrażliwość pokarmową .....</b>	<b>7</b>
---	----------

*Aneta Brodziak, Jolanta Król, Joanna Barłowska, Anna Teter, Wioletta Sawicka-Zugaj,  
Monika Kędzierska-Matysek, Barbara Topyła, Małgorzata Ryszkowska-Siwko*

Wstęp .....	7
Ocena wartości prozdrowotnej mleka i wytworzonych na jego bazie produktów mlecznych....	7
Tłuszcz mleczny .....	8
Składniki mineralne .....	10
Witaminy .....	12
Białka serwatkowe .....	14
Zdolność przeciwutleniająca .....	16
Bioaktywne składniki mleka a profilaktyka chorób cywilizacyjnych .....	17
Białka .....	18
Peptydy .....	21
Tłuszcz .....	24
Witaminy .....	26
Składniki mineralne .....	28
Technologie produkcji i przetwarzania mleka ukierunkowane na podniesienie wartości prozdrowotnej .....	29
Możliwości ograniczenia nietolerancji pokarmowej na składniki mleka .....	33
Alergia na białka mleka krowiego .....	33
Nietolerancja laktozy .....	34
Nadwrażliwość pokarmowa na $\beta$ -kazeinę A1 .....	36
Selekcjonowanie mleka A2 .....	38
Możliwości ograniczenia alergii na białka mleka krowiego .....	39
Usuwanie lub ograniczanie zawartości laktozy w mleku i produktach mlecznych .....	41
Podsumowanie .....	42
Piśmiennictwo .....	42

### ROZDZIAŁ 2

<b>Żywnościowe metody modyfikowania wartości odżywczej i cech sensorycznych mięsa wołowego – zawartość tłuszczu i profil kwasów tłuszczowych .....</b>	<b>55</b>
--	-----------

*Piotr Domaradzki, Piotr Stanek, Paweł Żółkiewski, Katarzyna Zdrzałek, Mariusz Florek,  
Marek Kowalczyk, Piotr Skalecki, Agnieszka Kaliniak-Dziura, Anna Teter*

Wstęp .....	55
Wpływ żywienia bydła na wartość odżywczą mięsa .....	57
Profil kwasów tłuszczowych mięsa cielęcego i wołowego .....	59
Podsumowanie .....	65
Piśmiennictwo .....	66

### ROZDZIAŁ 3

<b>Żywnościowe metody modyfikowania wartości odżywczej i cech sensorycznych mięsa wołowego – zawartość witamin i składników mineralnych oraz jakość sensoryczna</b> .....	69
<i>Piotr Domaradzki, Piotr Stanek, Paweł Żółkiewski, Aneta Krawiec, Mariusz Florek, Marek Kowalczyk, Piotr Skalecki, Monika Kędzierska-Matysek</i>	
Wstęp .....	69
Wpływ żywienia bydła na zawartość witamin w wołowinie.....	70
Wpływ żywienia bydła na zawartość składników mineralnych w wołowinie.....	72
Wpływ żywienia bydła na jakość sensoryczną wołowiny.....	77
Podsumowanie .....	81
Piśmiennictwo .....	81

### ROZDZIAŁ 4

<b>Funkcjonalne wyroby mięsne o obniżonej zawartości azotanów</b> .....	87
<i>Karolina M. Wójciak, Dariusz M. Stasiak, Małgorzata Karwowska</i>	
Wstęp .....	87
Źródła azotanów(V) i azotanów(III) w diecie człowieka .....	87
Funkcje oraz aspekty prawne związane z zastosowaniem azotanów w technologii mięsa.....	90
Kontrowersje związane z obecnością azotanów w produktach mięsnych.....	93
Metody ograniczania ilości i substytucja azotanów w technologii mięsa .....	95
Podsumowanie .....	105
Piśmiennictwo .....	107

### ROZDZIAŁ 5

<b>Żywnościowa rola lipidów ryb w profilaktyce i leczeniu chorób cywilizacyjnych</b> .....	111
<i>Agnieszka Kaliniak-Dziura, Piotr Skalecki, Mariusz Florek, Piotr Domaradzki</i>	
Wstęp .....	111
Ogólna charakterystyka lipidów ryb .....	111
Procesy oksydacyjne lipidów ryb.....	115
Wskaźniki wartości odżywczej i prozdrowotnej lipidów ryb.....	116
Rola lipidów ryb w profilaktyce i leczeniu chorób cywilizacyjnych .....	119
Podsumowanie .....	123
Piśmiennictwo .....	123

### ROZDZIAŁ 6

<b>Surowce i produkty roślinne oraz grzybowe jako źródło substancji bioaktywnych</b> .....	131
<i>Małgorzata Materska, Ewa Jabłońska-Ryś</i>	
Wstęp .....	131
Rodzaje związków .....	131
Aktywność chemiczna i biologiczna.....	139
Zastosowanie w żywności.....	142
Skład chemiczny i substancje bioaktywne w owocnikach grzybów jadalnych .....	143
Skład chemiczny i wartość odżywcza grzybów .....	144
Substancje biologicznie aktywne w grzybach.....	146
Grzyby jako żywność funkcjonalna, fortyfikacja i wzbogacanie żywności .....	152
Podsumowanie .....	154
Piśmiennictwo .....	155

ROZDZIAŁ 7

<b>Modele <i>in vitro</i> w badaniach nad biodostępnością składników odżywczych</b> .....	165
<i>Klaudia Kowalik, Iwona Niedźwiedz, Adam Waško, Magdalena Polak-Berecka</i>	
Wstęp .....	165
Trawienie w układzie pokarmowym <i>in vitro</i> .....	166
Modele kultur komórkowych <i>in vitro</i> do badania transportu transnabłonkowego .....	171
Czynniki wpływające na biodostępność składników odżywczych (matryca żywności, przetwarzanie, utrwalanie).....	177
Podsumowanie .....	182
Piśmiennictwo .....	182

ROZDZIAŁ 8

<b>Nowoczesne nietermiczne metody utrwalania żywności</b> .....	187
<i>Monika Sachadyn-Król</i>	
Wstęp .....	187
Technologie plazmowe .....	188
Ozonowanie .....	191
Pulsacyjne pole elektryczne .....	195
Podsumowanie .....	198
Piśmiennictwo .....	199

ROZDZIAŁ 9

<b>Aktywne folie i powłoki jadalne o działaniu przeciwutleniającym</b> .....	207
<i>Dariusz Kowalczyk</i>	
Wstęp .....	207
Składniki do produkcji opakowań jadalnych .....	207
Wpływ dodatku przeciwutleniaczy na właściwości fizykochemiczne folii.....	209
Właściwości przeciwutleniające aktywnych folii jadalnych .....	218
Podsumowanie .....	221
Piśmiennictwo .....	224