

**POSTĘPY NAUKI I TECHNOLOGII
PRZEMYSŁU ROLNO-SPOŻYWCZEGO**

t. 76 nr 1

Warszawa 2022

Rada Programowa

prof. dr hab. Włodzimierz Bednarski
dr hab. inż. Piotr Kielczyński, prof. IPPT PAN
prof. dr hab. Agnieszka Kita
prof. dr hab. Danuta Kołożyn-Krajewska
dr hab. inż. Iwona Konopka, prof. UWM
prof. dr hab. Józef Korczak
prof. dr hab. Grażyna Podolska
prof. dr hab. Zdzisław Targoński

Kolegium Redakcyjne

Redaktor Naczelny – dr hab. inż. Renata Jędrzejczak, prof. IBPRS-PIB

Redaktorzy tematyczni:

dr Beata Bartodziejska
dr inż. Katarzyna Kotarska
dr hab. inż. Dariusz Lisiak, prof. IBPRS-PIB
dr inż. Katarzyna Piasecka-Józwiak
dr inż. Elżbieta Polak
dr hab. inż. Stanisław Ptasznik, prof. IBPRS-PIB
dr inż. Sylwia Skąpska
dr hab. inż. Barbara Sokołowska, prof. IBPRS-PIB
dr inż. Anna Szafrąńska
dr inż. Elżbieta Wojtowicz

Sekretarz Redakcji

mgr Lila Nabiałek

Instytut Biotechnologii Przemysłu Rolno-Spożywczego im. prof. Waława Dąbrowskiego –
Państwowy Instytut Badawczy
ul. Rakowiecka 36, 02-532 Warszawa
tel. 22 606 36 99, lila.nabialek@ibprs.pl

Czasopismo wydawane jest w wersji pierwotnej drukowanej
Czasopismo recenzowane
Wydawnictwo Instytutu Biotechnologii Przemysłu Rolno-Spożywczego
im. prof. Waława Dąbrowskiego
Państwowego Instytutu Badawczego

ISSN 2083-5809
Projekt graficzny okładki – INNOVA
nakład 80 egz.

Przedmowa Redaktora

Szanowni Państwo,

Z ogromną przyjemnością przekazuję w Państwa ręce kolejny numer czasopisma IBPRS-PIB i jednocześnie chciałbym poinformować, że Redakcja po krótkiej przerwie wznawia pracę. Korzystając również z okazji pragnę bardzo podziękować Szanownej Pani Profesor Renacie Jędrzejczak, która do tej pory pełniła rolę Redaktora Naczelnego, za wieloletnią pracę w Redakcji. Mam nadzieję, że uda mi się, jako następcy, godnie reprezentować nasze wydawnictwo. Dołożymy wszelkich starań, by kolejne numery ukazywały się regularnie i zawierały dobrze merytorycznie przygotowane publikacje, dlatego też bardzo liczę na Państwa przychyłność, wyrozumiałość oraz współpracę. Naszym celem jest rozwój czasopisma wydawanego w IBPRS-PIB i zwiększenie punktacji za opublikowany w nim artykuł, dlatego też stopniowo, od kolejnych numerów, chciałbym zaproponować kilka kwestii organizacyjnych i merytorycznych. W pierwszej kolejności dokonane zostaną: zmiana tytułu wydawnictwa oraz języka publikacji (wyłącznie angielski). Ponadto zmianie ulegnie szata graficzna, przede wszystkim strony internetowej, także z uwzględnieniem lepszej i bardziej przejrzystej dostępności, ale również logo i okładki wydawnictwa. Większy nacisk zostanie położony na internetowe wydanie, w którym planuje się publikowanie artykułów od razu po ich akceptacji, w tzw. „trybie ciągłym”, bez konieczności oczekiwania do zamknięcia wydania na koniec kolejnego kwartału. Postaramy się również, by proces publikacyjny, tj. od nadesłania artykułu do przyjęcia do druku, był możliwie jak najkrótszy. Wszystkie działania są ukierunkowane, zgodnie z ministerialnymi wytycznymi, na zwiększenie liczby punktów, o które będziemy wnioskować, jak tylko wymogi formalne zostaną spełnione.

Niestety nawet pomimo najszczerzych chęci, dużego zapału ale też wiary w powodzenie przedsięwzięcia bez Państwa – Naukowców, chcących publikować w naszym wydawnictwie, nie jesteśmy w stanie wiele osiągnąć, dlatego też będziemy bardzo wdzięczni za Państwa pomoc i współpracę a szczególnie za nadsyłanie artykułów. Żywię ogromną nadzieję, że wspólnie możemy doprowadzić do rozwoju naszego czasopisma i pozyskać pewne i rzetelne miejsce, w którym wyniki przede wszystkim naszych badań będą mogły być opublikowane i przedstawione do oceny oraz polemiki z innymi naukowcami a autorzy prac będą poszerzali swój dorobek naukowy. Jeśli mają Państwo pytania bądź sugestie pozostaję do dyspozycji.

Łączę wyrazy szacunku,

Piotr Janiszewski

SPIS TREŚCI

Ółów, kadm i rtęć w produktach zbożowych w Polsce i ocena narażenia Jędrzejczak R., Ręczajska W.	6
Opracowanie innowacyjnego urządzenia MainBox do przechowywania żywności Wróbel-Jędrzejewska M., Stęplewska U., Polak E.	20
Zjawisko blokowania przepływu fazy wysokociśnieniowej oleju rzepakowego w układzie kapilary pomiarowej Wiśniewski R., Rostocki A., Ptasznik S., Wilczyńska-Kitowska T., Żukowski M.	33
Nasiona chmielowe jako źródło związków bioaktywnych dla przemysłu kosmetycznego oraz spożywczego Stepnevskaja J.	46
Metody utrwalania i długoterminowego przechowywania grzybów strzępkowych w kolekcjach kultur Sokołowska B, Kowalczyk M.	62
Informacje dla autorów	70

CONTENTS

Lead, cadmium and mercury in cereal products in Poland and exposure assessment Jędrzejczak R., Ręczajska W.	6
Development of an innovative food storage device MainBox Wróbel-Jędrzejewska M., Stęplewska U., Polak E.	20
The phenomenon of blocking the flow of the high-pressure phase of rapeseed oil in the measuring capillary system Wiśniewski R., Rostocki A., Ptasznik S., Wilczyńska-Kitowska T., Żukowski M.....	33
Hop seeds as a source of bioactive compounds for the cosmetic and food industry Stepnevskaja J.....	46
Methods for preservation and long-term storage of filamentous fungi in culture collection Sokołowska B., Kowalczyk M.....	62

LEAD, CADMIUM AND MERCURY IN CEREAL PRODUCTS IN POLAND AND EXPOSURE ASSESSMENT

Renata Jędrzejczak, Wiesława Ręczajska

Prof. Wacław Dąbrowski Institute of Agricultural and Food Biotechnology
State Research Institute
Rakowiecka str. 36, 02-532 Warsaw

renata.jedrzejczak@ibprs.pl

Streszczenie

Oszacowano poziom zanieczyszczenia krajowych produktów zbożowych metalami toksycznymi, takimi jak ołów, kadm i rtęć. Do oznaczania zawartości ołowiu i kadmu zastosowano technikę absorpcyjnej spektrometrii atomowej z atomizacją elektrotermiczną (ETAAS), natomiast do oznaczania zawartości rtęci – absorpcyjną spektrometrię atomową z techniką amalgamacji (AAS-Amalg.). Zbadano łącznie 166 próbek produktów zbożowych różnych asortymentów z różnych rodzajów zbóż zakupionych na rynku krajowym.

Zawartość ołowiu i kadmu w zbadanych produktach zbożowych była na ogół mała i nie przekraczała maksymalnych dopuszczalnych poziomów określonych w europejskich rozporządzeniach, z wyjątkiem 1 próbki kaszy jęczmiennej, w której zawartość kadmu została przekroczona (0,097 mg/kg). Dopuszczalna zawartość rtęci w produktach zbożowych nie została określona, tym niemniej oznaczone zawartości były poniżej 0,001 mg/kg, będącej granicą oznaczalności dla tego metalu.

Na podstawie uzyskanych wyników oszacowano dzienne/tygodniowe pobranie badanych metali toksycznych wraz z produktami zbożowymi przez dorosłego Polaka, które nie przekraczały wartości ustalonych przez EFSA.

Słowa kluczowe: ołów, kadm, rtęć, produkty zbożowe, ocena narażenia

OLÓW, KADM I RTEĆ W PRODUKTACH ZBOŻOWYCH W POLSCE I OCENA NARAŻENIA

Summary

The levels of domestic cereal products contamination with toxic metals such as lead, cadmium and mercury, were estimated. For lead and cadmium determination the

electrothermal atomic absorption spectrometry technique (ETAAS) was used while for mercury determination amalgamation technique with atomic absorption spectrometry (AAS-Amalg.) was used. A total of 166 samples of cereal products of various assortments from various types of grain purchased on the Polish market were analysed.

The lead and cadmium contents in the tested cereal products were generally low and did not exceed the maximum permissible levels specified in the European regulations, except one sample of barley groats in which cadmium content was exceeded (0.097 mg/kg). No regulations have been established for the mercury contents in cereal products however, they were below 0.001 mg/kg, i.e. the limit of quantification for this metal.

On the basis of the obtained results, daily/weekly intakes of toxic metals with the consumption of cereal products by Polish adults were assessed and they did not exceed values established by EFSA.

Keywords: lead, cadmium, mercury, cereal products, exposure assessment

INTRODUCTION

Trace elements, including those belonging to the group of toxic metals, occur naturally in the environment in amounts corresponding to the values of so-called natural background. They are also released into the environment as a result of various human activities (industry, automotive, agriculture), contributing to the pollution of groundwater, soil and plants.

The presence of toxic metals in food, such as lead, cadmium and mercury, considered absolutely harmful to health, depends on a number of environmental and production factors. Environmental factors include conditions for growing and breeding plants, applied agro-technical measures, climatic conditions, and the proximity of highways or larger urban agglomerations and industrial plants. Technological processes, on the one hand, may reduce the content of toxic metals in food during cleaning, removal of inedible parts and during thermal treatment. But also, toxic metals may get into food with substances added during production or by migration from technological equipment and from packaging. Despite the fact that these metals may be present in food in very small amounts, their toxic effect on the human health can be significant and contribute to the disruption of the natural life processes, and consequently to the emergence of some civilization diseases and health disorders. The common feature of these metals is the ability to accumulate in the human body, a long biological half-life and the associated chronic toxicity. For these reasons tolerable weekly intakes (Cd, Hg) or benchmark dose levels (BMDL – a lower 95% confidence limit) (Pb, Hg)

were set by EFSA [EFSA 2012a, 2012b, 2012c].

Table 1. Reference intakes of Pb, Cd and Hg
Referencyjne pobranie Pb, Cd i Hg

Metal	Parameter	Value
Pb	BMDL ₀₁	1.5 µg/kg b.w./day
	BMDL ₁₀	0.63 µg/kg b.w./day
Cd	TWI	2.5 µg/kg b.w.
	TWI	4.0 µg/kg b.w.
Hg	BMDL ₁₀	0.06 mg/kg b.w./day

BMDL₀₁ - benchmark dose level for cardiovascular effect; BMDL₁₀ - benchmark dose level for nephrotoxicity effect; TWI – tolerable weekly intake; b.w. - body weight

Cereals are one of the most important crops in the world and grain products are of great importance in human nutrition. Depending on the type of grain and technological processes, many types of food products are obtained from them, such as bread, pasta, breakfast cereals, snacks, cakes, and alcoholic beverages as whisky, beer, vodka, American Bourbon, Japanese sake and others. The recommended consumption of bread and cereal products is placed on the 3rd level of the current Food Pyramid developed for Polish people, after physical activity, and vegetable and fruit consumption [NIZP PZH-PIB, 2021].

The maximum levels for lead and cadmium in cereals were specified in two current European Regulations No 2021/1317 (Pb) and No 2021/1323 (Cd) amending previous Regulation (EC) No 1881/2006. The maximum level of mercury in cereals was not established due to the low risk of exposure assessed by the regulatory authorities.

Table 2. Maximum levels for toxic metals contents in cereals
Najwyższe dopuszczalne piziotomy metali toksycznych w zbożach

Metal	Products	Maximum level, mg/kg
Lead	Cereals	0.20
Cadmium	Cereals other than listed below	0.10
	Wheat bran	0.15
	Rye and Barley	0.050
Mercury	Cereals	-

In the present research, we focused on the assessment of toxic metals contamination (Pb, Cd, Hg) of selected and popular cereal products consumed in Poland, and their impact on health exposure in relation to the current requirements.

MATERIALS AND METHODS

Samples. A total of 166 samples of various assortments of cereal products from different types of grain available on the Polish market were tested. They included: 27 samples of flour, 20 samples of bran, 35 samples of groats, 35 samples of breakfast cereals, 14 samples of pasta, 15 samples of cereal snacks, and 20 samples of bread.

Reagents and standard solutions. All chemicals used in this study were of high analytical grade: nitric acid 69% (HNO₃, J.T. BAKER), palladium modifier (10±0.02 g/l w 5% HNO₃, CPI Inst.), standard solutions of Pb, Cd and Hg in concentration of 1000 mg/l (SPC Science), argon 99.999% oxygen 99.9%, double distilled water from Water still Aquatron A4D, J. Bibby Science Products Ltd. England.

Analysis of Pb, Cd and Hg. The concentrations of Pb and Cd in cereal products were determined according to the PN-EN 14084:2004 standard after microwave digestion, in triplicate. About 0.3 g of a homogeneous sample was weighed with the accuracy of 0.001 g into a Teflon vessel, 4 ml of HNO₃ were added and left until next day. Digestion was performed in a microwave oven in four steps (MARS 5, CEM Corp.) with power setting of 400-1200W during 50 min. After cooling and removing the excess of nitrous oxides in the ultrasonic bath, the sample was transferred to a 25 ml volumetric flask and Pb and Cd were determined using electrothermal atomic absorption spectrometry with Zeeman background correction (ETAAS) – Solaar M6, Thermo Scientific.

The concentration of Hg was determined according to the own research procedure [PB-ZA 04, 2016], not less than in triplicates. About 0.1 g of a homogenous sample with an accuracy of 0.001 g was weighed into a nickel boat and analyzed by atomic absorption spectrometry with the amalgamation technique using the Mercury Analyzer, Altec.

Verification and validation of methods, and conformation of validity of the study results.

The applied methods have been verified/validated according to the PN-EN ISO/IEC 17025:2018-02 standard and accredited by the Polish Center for Accreditation (PCA) with the Certificate No AB 452. For the purpose of this study, their appropriateness was checked with the use of two certified reference materials (Table 2). The obtained results were within the range of the certified values with recoveries from 97% to 102%.

Table 3. Results of lead, cadmium and mercury determinations in the certified reference materials
Wyniki oznaczania zawartości ołowiu, kadmu i rtęci w certyfikowanych materiałach odniesienia

	n	Content, in mg/kg ($\bar{x} \pm SD$)		
		Pb	Cd	Hg
CRM 281 Rye grass				
Obtained results, mg/kg	6	2.36 ± 0.08	0.122 ± 0.004	0.021 ± 0.001
Certified value, mg/kg		2.38 ± 0.11	0.120 ± 0.003	0.0205 ± 0.0019
Recovery, %		99.2	102	102
CRM 189 Wholemeal flour				
Obtained results, mg/kg	10	0.369 ± 0.011	0.0712 ± 0.0010	
Certified value, mg/kg		0.370 ± 0.012	0.0713 ± 0.0030	nc
Recovery, %		97.4	99.8	

nc – not certified

For confirmation of the validity of the results, the analyses of the blank and tested samples were carried out in 3 replicates and appropriate CRM was added to each analytical run. Regular participation in proficiency testing such as FAPAS and LGC was also provided, with the satisfactory results.

Exposure assessment of Pb, Cd and Hg. To determine the level of the Polish adult exposure to Pb, Cd and Hg through consumption of cereal products, the daily/weekly intakes (DI/WI) were assessed.

$$DI/WI = (C_{cp} \times M_{dc/wc}) / b.w.$$

where C_{cp} is the mean content of individual metal in the cereal products, $M_{dc/wc}$ is the mean mass of daily/weekly consumption of cereal products, and b.w. is the average body weight of adult consumer.

Statistical analysis. Statistical analysis and all calculations were performed using Excel (Microsoft Office Standard 2013), TIBCO Software Inc. (2017) and Statistica version 13. The average values and standard deviation were calculated for all kinds of products made from different types of cereals. For the values below the limit of quantification (LOQ), the half of it (i.e. 0.0005 mg/kg) was taken for the calculation. In order to compare the content of toxic metals in various cereal products, the Kruskal-Wallis one-way analysis of variance by ranks and the multiple comparison test were performed. The adopted level of significance was $\alpha=0.05$.

RESULTS AND DISCUSSION

The results of the Pb, Cd, and Hg in the various assortments of the examined cereal products are presented below.

Table 4. Pb, Cd and Hg contents in cereal products
Zawartość Pb, Cd i Hg w produktach zbożowych

Products	N	Pb, mg/kg		Cd, mg/kg		Hg, mg/kg
		range	$\bar{x}\pm SD$	range	$\bar{x}\pm SD$	
All cereals	166	<0.001-0.153	0.021±0.028	<0.001-0.123	0.028±0.025	<0.001
Flour	27	<0.001-0.153	0.041±0.035	0.002-0.044	0.021±0.013	<0.001
wheat	13	<0.001-0.105	0.026±0.029	0.017-0.044	0.034±0.008	<0.001
rye	8	<0.001-0.141	0.050±0.039	0.005-0.016	0.010±0.003	<0.001
barley	1	0.032	0.032	0.006	0.006	<0.001
oat	1	0.053	0.053	0.028	0.028	<0.001
buckwheat	1	0.069	0.069	0.027	0.027	<0.001
corn	3	0.022-0.153	0.069±0.059	0.002-0.014	0.009±0.005	<0.001
Bran	20	<0.001-0.080	0.020±0.020	0.010-0.123	0.042±0.032	<0.001
wheat	9	<0.001-0.049	0.018±0.017	0.016-0.123	0.071±0.033	<0.001
rye	6	<0.001-0.080	0.030±0.010	0.010-0.023	0.017±0.006	<0.001
oat	5	<0.001-0.027	0.009±0.020	0.016-0.044	0.031±0.011	<0.001
Groats	35	<0.001-0.116	0.029±0.031	<0.001-0.097	0.036±0.029	<0.001
wheat	10	<0.001-0.068	0.025±0.023	0.013-0.080	0.045±0.021	<0.001
barley	9	<0.001-0.116	0.040±0.041	<0.001-0.097	0.023±0.027	<0.001
buckwheat	5	<0.001-0.031	0.014±0.012	0.053-0.090	0.076±0.020	<0.001
millet	5	0.004-0.039	0.020±0.011	0.026-0.081	0.052±0.022	<0.001
corn	6	<0.001-0.107	0.039±0.041	<0.001-0.005	0.004±0.003	<0.001
Flakes	35	<0.001-0.066	0.016±0.019	<0.001-0.085	0.028±0.022	<0.001
wheat	8	<0.001-0.066	0.022±0.023	0.014- 0.055	0.039±0.013	<0.001
rye	2	<0.001-0.014	0.007±0.007	0.009-0.019	0.014±0.005	<0.001
barley	5	<0.001-0.007	0.002±0.003	0.007-0.017	0.012±0.004	<0.001
oat	6	<0.001-0.065	0.017±0.022	0.024-0.085	0.050±0.022	<0.001
buckwheat	1	0.011	0.011	0.051	0.051	<0.001
millet	2	<0.001-0.066	0.033±0.032	0.021-0.033	0.027±0.006	<0.001
corn	6	<0.001-0.065	0.020±0.018	<0.001-0.006	0.004±0.002	<0.001
multigrain	5	0.007-0.045	0.015±0.016	0.010-0.073	0.028±0.023	<0.001
Pasta	14	<0.001-0.045	0.005±0.010	0.010-0.086	0.031±0.019	<0.001
wheat	9	<0.001-0.045	0.008±0.013	0.024-0.086	0.044±0.019	<0.001
rye	2	<0.001	<0.001	0.010-0.024	0.017±0.007	<0.001
barley	1	<0.001	<0.001	0.015	0.015	<0.001
buckwheat	1	<0.001	<0.001	0.030	0.030	<0.001
corn	1	<0.001	<0.001	0.014	0.014	<0.001
Bread	20	<0.001-0.097	0.015±0.023	0.001-0.030	0.012±0.007	<0.001
wheat	5	<0.001-0.044	0.014±0.0160	0.001-0.030	0.012±0.010	<0.001
rye	5	<0.001-0.045	0.010±0.018	0.008-0.012	0.008±0.002	<0.001
barley	1	<0.001	<0.001	0.013	0.013	<0.001
corn	1	<0.001	<0.001	0.005	0.005	<0.001
multigrain	1	<0.001-0.097	0.022±0.032	0.010-0.020	0.015±0.004	<0.001
Snacks	15	<0.001-0.017	0.006±0.005	<0.001-0.050	0.011±0.015	<0.001
wheat	5	<0.001-0.009	0.005±0.003	0.003-0.050	0.022±0.020	<0.001
oat	2	<0.001-0.004	0.002±0.002	0.010-0.024	0.017±0.007	<0.001
corn	7	<0.001-0.017	0.008±0.006	<0.001-0.006	0.002±0.002	<0.001
multigrain	1	0.005	0.005	0.006	0.006	<0.001

Lead. Of all analysed samples, 73% contained Pb at the level below the determined LOQ and also all of them fell below the maximum level of Pb established by the European regulation. The highest Pb contents were found in: 1 sample of corn flour (0.153 mg/kg) and 1 sample of corn groats (0.107 mg/kg), 1 sample of rye flour (0.141 mg/kg), 2 samples of barley groats (0.116 mg/kg; 0.104 mg/kg), and 1 sample of wheat flour (0.105 mg/kg).

Among the examined types of cereal products, their mean Pb contents were in order: flour > groats > bran > flakes > bread > snacks > pasta.

On the other hand, statistical analysis showed that Pb concentrations in cereal products did not differ significantly ($p>0.05$) in relation to the type of grain from which they were produced (Fig. 1). However, these results in individual groups of cereal products varied widely with the relative standard deviation (RSD) ranged from 88% in millet products to 152% in rye products, and for all cereal products - 134%, on average.

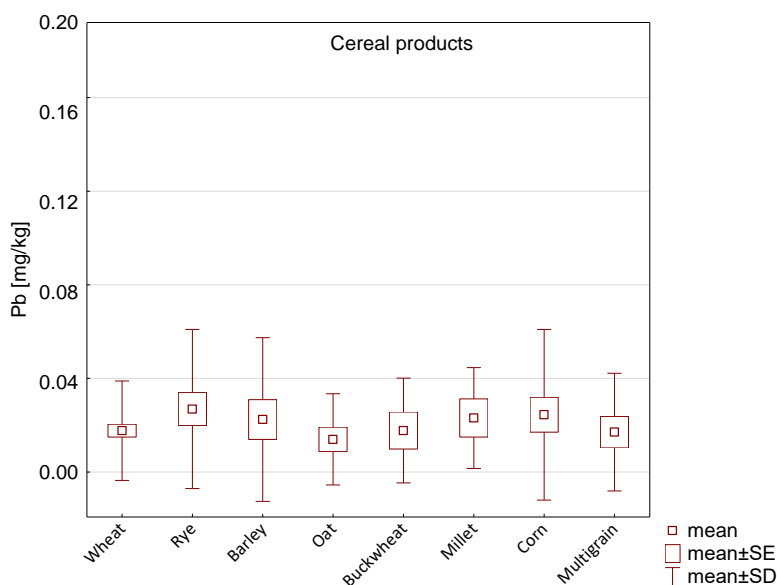


Figure 1. Mean Pb contents in cereal products from different type of grain
Średnie zawartości Pb w produktach zbożowych z różnych rodzajów zbóż

Similar results of Pb in cereal products in Poland were presented earlier by Wojciechowska-Mazurek et al. [2008], Kot et al. [2009a], Siebielec, Siebielec [2016], and also in Germany [Schwarz et al. 2014], Italy [Albergamo et al. 2018], and Slovenia [Krincic et al. 2019].

In turn, studies carried out by Kot et al. [2011] showed much higher content of Pb in pasta available on the market in Poland. Also Fiłon et al. [2013] revealed much higher

contents of Pb in different cereal products (0.007-0.375 mg/kg) with values exceeding maximum permissible level in several samples of groats, pasta, wheat flour and bran. Higher contents of Pb in cereal products were also reported from Spain [Marin et al. 2018], Morocco [Sifou et al. 2021], Iran [Ghanati et al. 2019], China [Liang et al. 2019], and Australia [Tinggi, Scoendorfer 2018]. Such levels of Pb contents in cereal products were also presented by Khaneghah et al. [2020] who analyzed world data published between 2013 and 2019, and also by EFSA [2012a]. However, EFSA [2012a] underlined seemingly decreasing lead levels in food (23%) compared to the previous opinion on this subject [EFSA 2010]. On the contrary, lower mean Pb contents in cereals and cereal products were found in UK [Rose et al. 2010], France [Millour et al. 2011] and Spain [Perello et al. 2014].

Nevertheless, almost all of these authors emphasized the high variability of lead content in the examined cereal products which, to a large extent, can be generally explained by the varied environmental and technological conditions of their production [El-Kady, Abdel-Wahhab 2018].

Cadmium. Of all analysed cereal products, only 4% contained Cd at the level below the LOQ for this metal but still below the maximum levels set for Cd [EU 2021/1323], excluding one sample of barley groats (0.097 mg/kg) in which it was exceeded. However, 11 samples (6.6%) have relatively high Cd contents close to the limit levels: 2 samples of wheat bran (0.123 mg/kg; 0.110 mg/kg), 1 sample of wheat pasta (0.086 mg/kg), 1 sample of wheat groats (0.080 mg/kg),

1 sample of oat flakes (0.085 mg/kg) and 3 samples of buckwheat groats (0.097 mg/kg, 0.090 mg/kg, 0.087 mg/kg), 2 samples of millet groats (0.081 mg/kg; 0.074 mg/kg), and 1 sample of mixed cereals (0.073 mg/kg).

Among examined cereal product groups, the mean Cd contents were in different order than for Pb, i.e.: bran > groats > pasta > flakes > flour > bread, snacks.

On the other hand, statistical analysis confirmed that Cd concentration in cereal products significantly ($p < 0.05$) depended on the type of grain from which they were produced (Fig. 2). For them the mean Cd contents were in sequence: buckwheat products > millet products > wheat products > oat products > multigrain products > barley products > rye products > corn products. Nevertheless, the Cd results in the individual group of cereal products also varied widely with RSD ranged from 46% in rye products to 116% in barley products, and for all cereal products on average - 90%.

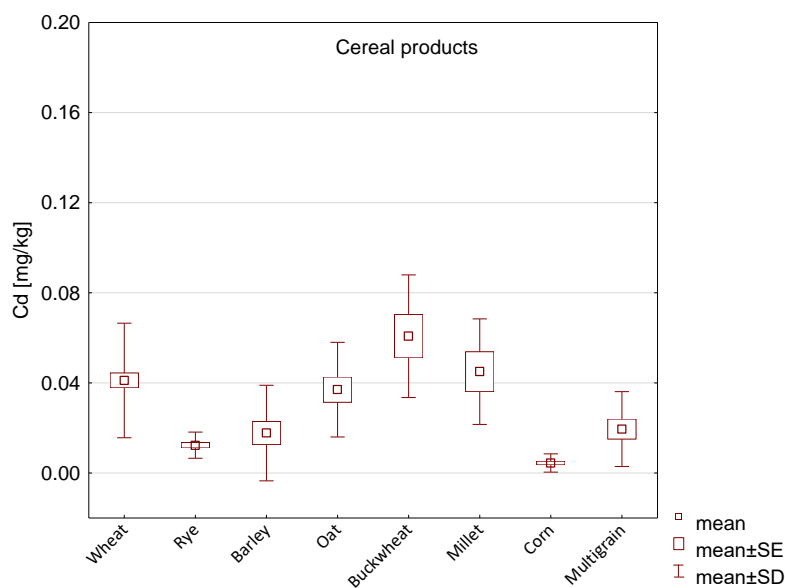


Figure 2. Mean Cd contents in cereal products from different type of grain
Średnie zawartości Cd w produktach zbożowych z różnego rodzaju ziarna zbóż

Similar results of Cd in cereal products in Poland were presented earlier by Wojciechowska-Mazurek et al. [2008], Kot et al. [2009b, 2011], Siebielec and Siebielec [2016], and also in the UK [Rose et al. 2010], France [Millour et al. 2011], Germany [Schwarz et al. 2014], Belgium [Vromman et al. 2010], Italy [Albergamo et al. 2018], Slovenia [Krincic et al. 2019], China [Liang et al. 2019], and Australia [Tinggi, Scoendorfer 2018]. Such levels were also presented by EFSA [2012b], and Khaneghah et al. [2020] who analyzed published world data for Cd contents in cereal products between 2013 and 2019. Lower mean cadmium contents in cereal products were assessed in Spain [Perell et al. 2014].

Apart from that, earlier studies carried out in Poland also showed widely varied results of Cd in cereal products which in some cases exceeded maximum levels e.g. in bread, pasta and barley groats [Fiłon et al. 2012]. Higher results of Cd in cereal products were reported recently from Spain [Marin et al. 2018], Australia [Tinggi, Scoendorfer 2018], Morocco [Sifou et al. 2021], and Iran [Ghanati et al. 2019], too.

Mercury. In all examined samples of cereal products the concentrations of mercury were very low, i.e. below the limit of quantification (0.001 mg/kg). These results were comparable with those received in an earlier study [Jędrzejczak 2007]. Very low mercury concentrations (on average 0.003 mg/kg) in a wide range of cereal products (bread, flour, groats, pasta) available on the market in Poland were reported by Wojciechowska-Mazurek et al. [2008], too. Similar mean middle bound (MB) value (0.002 mg/kg) of data from 20 countries from 2002-2011 was

also presented by EFSA [2012c]. In France [Millour et al. 2011] Hg contents in cereals and cereal products were assessed on the level of 0.005-0.006 mg/kg, but in Spain [Perello et al. 2014] and UK [Rose et al. 2010] below the limit of detection.

Cereals contribution to dietary intakes of Pb, Cd, Hg – health risk assessment

To evaluate exposure and the health risk related to the presence of studied toxic metals in cereal products by adult population in Poland – the daily/weekly intakes were calculated and compared with the values established by EFSA (Table 1). In Poland in 2020, the consumption of bread and cereal products was 5.31 kg/person/month, i.e. 1.222 kg/person/week and 0.175 kg/person/day, according to the data of the Central Statistical Office [GUS, 2021]. The average body weight of adult consumer was considered to be 60 kg, and the average content of Pb and Cd in cereal products estimated in this study were 0.021 mg/kg and 0.028 mg/kg, respectively. For Hg half of LOQ was taken for assessment. Thus cereal products generate intakes of Pb, Cd and Hg for adults in Poland as presented below.

Table 5. Daily/weekly intake of Pb, Cd and Hg with cereal products by adults in Poland
Dzienne/tygodniowe pobranie Pb, Cd i Hg z produktami zbożowymi przez osoby dorosłe w Polsce

	Pb	Cd	Hg
DI, µg/kg b.w.	0.061	0.081	0.001
WI, µg/kg b.w.	0.427	0.570	0.010
% BMDL ₀₁	4.1	-	-
% BMDL ₁₀	9.7	-	<0.01
% TWI	-	22.8	0.25

Cereal products are considered as a staple food for adults which are consumed in relatively large amounts in Poland (16%). However, their consumption is systematically decreasing, e.g. by approx. 40% since 2003 [GUS, 2021]. Nevertheless, dominating food in the adult diet contribute the most to the overall exposure to toxic metals. According to EFSA [2012a, 2012b, 2012c] consumption of bread and cereal products contribute to the overall exposure of adults to Pb, Cd and Hg in 16.1%, 26.9%, 7.8%, respectively.

Lead. The results of this study showed lower daily intake of Pb with cereal products than presented by EFSA [2012a], i.e. 0.109 µg/b.w. Also, even lower daily intakes of Pb with cereal products by adults were found in the UK – 0.049 µg/kg b.w. [Rose et al. 2010], Spain – 0.037 µg/kg b.w. [Perello et al. 2014], and France – 0.030 µg/kg b.w. [ANSES 2011].

Cadmium. The assessed weekly intake of Cd with cereal products by adults in this study was comparable to this presented by EFSA [2012b], i.e. 0.0549 µg/kg b.w., and in Spain – 0.055 µg/kg b.w. [Perello et al. 2014] and France – 0.0517 µg/kg b.w. [ANSES 2011]. Higher weekly intakes of Cd were found in Germany – 0.0664 µg/kg b.w. [Schwarz et al. 2014] and the UK – 0.062 µg/kg b.w. [Rose et al. 2010]. Lower weekly intake of Cd were found in Italy – 0.0462 µg/kg b.w. [Filippini et al. 2018] and Belgium – 0.0374 µg/kg b.w. [Vromman et al. 2010].

Mercury. Although all results of this study were below LOQ, for intake calculation half of its value was taken into consideration. This value was very low and was only 0.25% of the current TWI and not important for BMDL₁₀. The same value of exposure to this metal from consumption of cereal products was also recognized by EFSA [2012c] - as a mean of lower MB value, and also in other countries as in the UK – 0.0077 µg/kg b.w./week, France – 0.0004 µg/kg b.w./week [ANSES 2011], and Spain – 0 µg/kg b.w./week [Perello et al. 2014].

CONCLUSIONS

The toxic metals contents such as lead and cadmium found in the tested cereal products available on the Polish market varied widely, but generally they did not exceed the maximum permissible levels, specified in the EU Regulation [2021/1317, 2021/1323], except one sample of barley groats in which the cadmium content exceeded this level. The mercury contents in the examined cereal products were very low and in all samples below LOQ. The estimated exposure of the adult consumers in Poland to toxic metals such as lead, cadmium and mercury coming from consumption of cereal product was close to that in the EU population presented by EFSA [2012a, 2012b, 2012c], except the lead intake, which was lower in this study, and also to data presented by the authors from different countries. Lower level of lead intake from cereal products could suggest positive trend of decreasing exposure to this toxic metal from consumption of cereal products in Poland. Still remains the problem with the high exposure to cadmium from cereal products despite the systematically declining consumption of these kinds of products.

REFERENCES

1. Albergamo A., Bua G.D., Rotondo A., Bartolomeo G., Annuario G., Costa R., Dugo G. (2018). Transfer of major and trace elements along the “farm to fork” chain of different whole grain products. *J. Food Comp. Anal.*, 66, 212-220

2. ANSES (2011). Second French Total Diet Study. Report 1 Inorganic contaminants, persistent organic pollutants, mycotoxins and phytoestrogens. Expert Report.
3. EC No 1881/2006. Commission Regulation (EC) No 1881/2006 setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs. OJ EU L 364/5
4. EFSA. European Food Safety Authority (2010). EFSA Panel on Contaminants in the Food Chain. Scientific opinion on lead in food. EFSA Journal 8(4): 1570, 1-151
5. EFSA. European Food Safety Authority (2012a). Scientific Report of EFSA. Lead dietary exposure in the European population. EFSA Journal, 10(7), 2831, 1-59
6. EFSA. European Food Safety Authority. (2012b) Scientific Report of EFSA. Cadmium dietary exposure in the European population. EFSA Journal, 10(1): 2551, 1-37
7. EFSA. European Food Safety Authority (2012c). Scientific Opinion on the risk for public health related to the presence of mercury and methylmercury in food. EFSA Journal, 10 (12):2985, 1-241
8. El-Kady A.A., Abdel-Wahhab M.A. (2018). Occurrence of trace metals in foodstuffs and their health impact. Trends Food Sci. Technol., 75, 36-45
9. EU 2021/1317. Commission Regulation (EU) 2021/1317 of 9 August 2021 amending Regulation (EC) No 1881/2006 as regards maximum levels of lead in certain foodstuffs. OJ EU L 286/1-4
10. EU 2021/1323. Commission Regulation (EU) 2021/1323 of 10 August 2021 amending Regulation (EC) No 1881/2006 as regards maximum levels of cadmium in certain foodstuffs. OJ EU L 288/13-18
11. Fiłon J., Karwowska A., Karczewski J. (2012) Cadmium content in cereal products available on retail sale in Podlaskie Province. Bromat. Chem. Toksykol., 45(3), 343-348 [in Polish]
12. Fiłon J., Ustymowicz-Farbiszewska J., Karczewski J. 2013. Lead content in cereal products as a population health threat marker: A case study in the province of Podlasie. J. Elem., 18(3), 391-401
13. Ghanati K., Zayeri F., Hosseini H. (2019). Potential health risk assessment of different heavy metals in wheat products. Iran. J Pharm. Res. 18(4), 2093-2010
14. GUS 2021. Central Statistical Office of Poland
15. Jędrzejczak R. (2007). Mercury in raw materials and food products of plant origin. Conf. Rep. „Mercury in the environment – Identification of the exposure for human health”. Gdynia, Poland [in Polish]

16. Khaneghah A.M., Fakhri Y., Nematollahi A., Pirhadi M. (2020). Potentially toxic elements (PTEs) in cereal based foods: A systematic review and meta-analysis. *Trends Food Sci. Technol.*, 96, 30-44
17. Kot A., Zaręba S., Wyszogrodzka-Koma L. (2009a). Assessment of lead contamination in cereals. Cereal products and potatoes from Lublin region. *Food. Science. Technology. Quality*, 4(65), 86-91 [in Polish]
18. Kot A., Zaręba S., Wyszogrodzka-Koma L. (2009b). Assessment of cadmium contamination in cereals, cereal products and potatoes. *Bromatol. Chem. Toksykol.*, 42(3), 537-542 [in Polish]
19. Kot A., Zaręba S., Wyszogrodzka-Koma L., Staszowska M. (2011). Assessment of cadmium and lead contamination in pasta. *Bromatol. Chem. Toksykol.*, 44(4), 1065-1072 [in Polish]
20. Kirincic S., Joksić A.S., Zupan M., Ivanos J., Rep P., Rotter E., Ivartnik M., Grcman H. (2019). Lead and cadmium in foods/drinking water from Slovenian market/taps: Estimation of overall chronic dietary exposure and health risks. *Food Addit. Contam.*, 36(100), 1522-1537
21. Liang G., Gong W., Li B., Zuo J., Pan L., Liu X. (2019). Analysis of heavy metals in foodstuffs and an assessment of the health risk to the general public via consumption in Beijing, China. *Int. J. Environ. Res. Public Health*, 16, 909
22. Marin S., Sanchez A., Sanchis Y., Velez D., Devesa V., Font G. Yusa . (2018) Assessment of metal levels in foodstuffs from the region of Valencia (Spain). *Toxicol. Rep.*, 5, 654-670
23. Millour S., Noel L., Kadar A., Chekri R., Vastel Ch., Sirot V., Leblanc J-Ch., Guerin T. (2011). Pb, Hg, Cd, As, Sb and Al levels in foodstuffs from the 2nd French total diet study. *Food Chem.*, 126, 1787-1799
24. NIZP PZH-PIB. (2021). Pyramid of healthy nutrition and physical activity. National Institute of Public Health PZH – State Research Institute
25. PB-ZA 04 ed. 5 from 15.03.2016 Foodstuffs. Determination of mercury content by atomic absorption spectrometry (AAS) combined with amalgamation technique [in Polish]
26. Perello G., Llobet J.M., Gomez-Catalan J., Castell V., Centrich F., Nadal M., Domingo J.I. (2014). Human health risk derived from dietary exposure to toxic metals in Catalonia, Spain: Temporal trend. *Biol. Trace Elem. Res.*, 162, 26-37

27. PN-EN 14084:2004 Foodstuffs – Determination of trace elements – Determination of lead, cadmium, zinc, copper and iron by atomic absorption spectrometry (AAS) after microwave digestion. Polish Committee for Standardization [in Polish]
28. Rose M., Baxter M., Brereton N., Baskaran C. (2010). Dietary exposure to metals and other elements in the 2006 UK Total Diet Study and some trends over the last 30 years. *Food Addit. Contam. Part A*, 27(10), 1380-1404
29. Schwarz M.A., Lindtner O., Blume K., Heinemeyer G., Schneider K. (2014). Cadmium exposure from food: the German LExUKon project. *Food Addit. Contamin. Part A*, 31(6), 1038-1051
30. Siebielec S., Siebielec G. (2016). Cadmium and lead content in bread and cereal products. *Scientific achievements of Polish young scientists*, 119-130 [in Polish]
31. Sifou A., Benabbou A., Aakame R. B., Mahnine N., Antonopoulos A., Halim M., Zinedine A. (2021). Trace elements in breakfast cereals and exposure assessment in Moroccan population: Case of lead and cadmium. *Biol. Trace Elem. Res.*, 199, 1268-1275
32. Vromman V., Waegeneers N., Cornelis C., De Boosere I., Van Holderbeke M., Vinkx C., Smolders E., Huyghebaert A., Pussemier L. (2010). Dietary cadmium intake by the Belgian adult population. *Food Addit. Contamin.*, 27(12), 1665-1673
33. Wojciechowska-Mazurek M., Starska K., Brulinska-Ostrowska E., Plewa M., Biernat U., Karłowski K. (2008). Monitoring of contamination of foodstuffs with elements noxious to human health. Part 1. Wheat cereal products, vegetable products, confectionery and products for infants and children (2004 year). *Roczn. PZH*. 59(3), 251-266 [in Polish]
34. Wojciechowska-Mazurek M., Mania M. Starska K., Opoka M. (2010). Kadm w środkach spożywczych – celowość obniżenia limitów. *Przem. Spoż.* 64, 45-48 [in Polish]

OPRACOWANIE INNOWACYJNEGO URZĄDZENIA MAINBOX DO PRZECHOWYWANIA ŻYWNOŚCI

Magdalena Wróbel-Jędrzejewska, Urszula Stęplewska, Elżbieta Polak

Instytut Biotechnologii Przemysłu Rolno-Spożywczego
im. prof. Waława Dąbrowskiego
Państwowy Instytut Badawczy
Zakład Technologii i Techniki Chłodnictwa
Al. Marszałka J. Piłsudskiego 84, 92-202 Łódź

magdalena.jedrzejewska@ibprs.pl

Streszczenie

Omówiono wybrane prace zrealizowane w projekcie badawczym „Przeprowadzenie prac badawczo - rozwojowych w firmie D&K Technology mających na celu opracowanie innowacyjnego produktu MainBox, umożliwiającego odbiór artykułów spożywczych bez konieczności czekania na dostawcę”. Przedstawiono wyniki badań i analiz, które umożliwiły opracowanie i zbudowanie prototypu urządzenia (paczkomatu dla żywności), złożonego z niewielkich komór (boksów) chłodniczych i mroźniczych, zapewniających warunki temperaturowe (+5°C lub -18°C), umożliwiające przechowywanie żywności. Zapewnienie optymalnych warunków temperaturowych wewnątrz boksów (chłodniczych i mroźniczych) jest możliwe dzięki odpowiedniej konstrukcji urządzenia (materiały, instalacja chłodnicza) i prawidłowo funkcjonującym systemom (sterowania agregatami chłodniczymi, zabezpieczeń, monitoringu temperatury).

Słowa kluczowe: łańcuch chłodniczy, e-zakupy, paczkomat dla żywności, przechowywanie żywności

DEVELOPMENT OF AN INNOVATIVE FOOD STORAGE DEVICE MAINBOX

Summary

Selected works carried out in the research project "Conducting research and development works at D&K Technology" aimed at developing an innovative MainBox product, enabling the collection of food products without having to wait for a supplier, were discussed. The results of research and analyzes were presented, which enabled the development and construction of a prototype device (food parcel locker), consisting of small cooling and

freezing chambers (boxes) ensuring temperature conditions (+5°C or -18°C), enabling food storage. Ensuring optimal temperature conditions inside the boxes (cooling and freezing) is possible thanks to the appropriate construction of the device (materials, cooling installation) and properly functioning systems (control of chillers, security, temperature monitoring).

Keywords: cold chain, e-shopping, food parcel locker, food storage

1. WSTĘP

Utrzymanie dobrej jakości płodów rolnych oraz produktów spożywczych można osiągnąć dzięki zagwarantowaniu ciągłości łańcucha chłodniczego [James, James 2010]. Natomiast ograniczanie marnotrawienia żywności, szczególnie w gospodarstwach domowych, jest możliwe poprzez racjonalne nabywanie produktów [Borrello i in. 2017]. Obecnie poszukuje się nowych kanałów dystrybucji żywności, które ułatwiłyby dostarczenie jej w odpowiednich warunkach przechowalniczych (temperatura) i w dogodnym czasie.

Z przeprowadzonych w 2018 r. badań wynikało, że co siódmy internauta regularnie nabywa produkty spożywcze w sieci. Najczęściej drogą elektroniczną kupowane były napoje, pieczywo, owoce i warzywa [Raport 2018]. Dla zapewnienia ciągłości dostaw konieczne jest opracowanie nowych rozwiązań umożliwiających swobodę dostarczania produktów przez dystrybutorów, jak i odbioru ich przez klienta, przy ograniczonym kontakcie osób trzecich. Sprawne zapewnienie społeczeństwu łatwego dostępu do żywności o dowolnej porze, jest możliwe z zastosowaniem innowacyjnego urządzenia typu paczkomat z odpowiednimi warunkami temperaturowymi wewnątrz komór.

W artykule opisano pierwszy etap prac dotyczących opracowania prototypów modułów chłodniczego i mroźniczego urządzenia (Mainbox) do przechowywania żywności, wykonanych w ramach projektu, którego wnioskodawcą była firma D&K Technology Sp. z o. o. Projekt zrealizowano w okresie od stycznia do października 2019 r. Skonstruowany produkt będzie wzmocnieniem potencjału innowacyjnego wielkopolskiego przedsiębiorstwa.

Opracowane urządzenie jest odpowiedzią na obecną potrzebę społeczeństwa. Jest właściwym rozwiązaniem na dostarczenie żywności dla konsumentów w trudnej rzeczywistości reżimu sanitarnego, spowodowanego stanem zagrożenia epidemiologicznego, dotyczącego zachorowań na COVID-19 (koronawirus). Aktualnie, potencjał rozwoju takiej formy handlu żywnością zwiększył się dzięki zapewnieniu optymalnych warunków przechowalniczych.

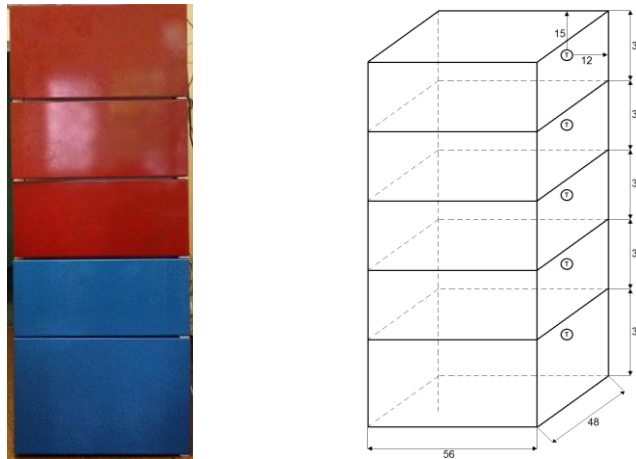
2. PROTOTYP KORPUSÓW MODUŁÓW CHŁODNICZEGO I MROŹNICZEGO

Zbudowanie prototypu korpusów modułów: chłodniczego i mroźniczego, wymagało określenia wielkości urządzenia i wyboru materiałów konstrukcyjnych, m.in. materiału izolacyjnego, uszczelnienia, materiału wyłożenia wnętrza boksów oraz opracowanie ich konstrukcji w celu wykonania ich zgodnie z przyjętymi założeniami. Urządzenie wykonano ze stali kwasoodpornej i uwzględniono w nim przestrzeń na instalację chłodniczą. Przy projektowaniu optymalnych parametrów konstrukcji korpusu uwzględniono następujące wytyczne:

- niezbędną kubaturę dla:
 - przechowywanej żywności (komory - boksy na produkty spożywcze),
 - prawidłowego rozmieszczenia instalacji układu chłodniczego,
 - oprzyrządowania pomiarowego i obsługującego system dostępu klienta do danego boksów;
- zapewnienie odprowadzenia ciepła (generowanego w skraplaczu) na zewnątrz, dla zapewnienia ochrony wnętrza przed przegrzaniem i zapewnienia poprawnej pracy układu chłodniczego;
- ochronę wrażliwych komponentów wewnętrznych przed wpływem czynników zewnętrznych, tj. wilgocią (opady atmosferyczne) i zmienną temperaturą;
- ochronę elementów instalacji chłodniczej, zainstalowanych układów (kontrolnych i pomiarowych), jak i samych boksów przed ingerencją osób trzecich (akty wandalizmu).

Uwzględnienie tych wytycznych umożliwiło optymalizację i określenie wymiarów urządzenia (modułu chłodniczego i mroźniczego) - 230 x 70 x 70 cm (rys. 1). Moduł podzielono na 5 komór (boksów) do przechowywania żywności, każdy otwierany z przodu osobnymi drzwiami. Z tyłu modułu, na całej wysokości, usytuowano wspólną komorę o głębokości ok. 5 cm, która umożliwia zasilanie każdego boksów zimnym powietrzem. Przy opracowywaniu koncepcji niezbędnych instalacji w modułach, przeanalizowano następujące aspekty:

- dobór i rozmieszczenie elementów układu chłodniczego (m. in. sprężarka, skraplacz, wentylator, kapilara, osuszacz),
 - umiejscowienie parownika oraz sposób jego odtajania,
 - sposób zasilania każdego boksów zimnym powietrzem,
- system monitoring temperatury,
- system zabezpieczeń (alarmy z powiadomieniem i blokadą otwarcia drzwi, sygnalizacja dźwiękowa zbyt długiego otwarcia drzwi).



Rysunek 1. Prototypowe urządzenie (modułu chłodniczego i mroźniczego) z wewnętrznymi wymiarami komór i rozmieszczeniem czujników temperatury *Prototype device (cooling and freezing module) with internal dimensions of chambers and arrangement of temperature sensors*

2.1 MATERIAŁ IZOLACYJNY I USZCZELNIENIE

Dobór materiału izolacyjnego wymagał określenia optymalnego współczynnika przewodzenia ciepła oraz uwzględnienia aspektów ekonomicznych i energetycznych. Właściwe uszczelnienie urządzenia zapewnia ochronę izolacji termicznej przed zawilgoceniem oraz zminimalizowanie wnikania pary wodnej do wnętrza boks. Skroplenie pary wodnej na ściankach wewnętrznych prowadzić może do pogorszenia warunków przechowalniczych oraz psucia się produktów spożywczych. Przy doborze materiału do wyłożenia wnętrza boks, uwzględniono także aspekt jego dopuszczenia do kontaktu z żywnością.

Na podstawie analizy parametrów materiałów izolacyjnych dostępnych na rynku, wybrano optymalny produkt z wymaganym współczynnikiem przewodzenia ciepła – styrodur (polistyren ekstrudowany, pianka polistyrenowa), który powstaje ze spienionego polistyrenu i składa się z małych, zamkniętych komórek, przez co zachowuje większe właściwości izolacyjne niż np. styropian [Radziszewska-Zielina 2009]. Wykonano obliczenia i analizę wpływu grubości izolacji na temperatury i warunki przechowywania oraz na koszty budowy i eksploatacji urządzenia (zużycie energii). Im mniejszy jest współczynnik przenikania ciepła, tym lepsza izolacyjność cieplna przegrody. Współczynnik przewodzenia i oporu cieplnego w modułach mroźniczym i chłodniczym, przy zastosowanej izolacji typu styrodur, w zależności od grubości, przedstawiono w tab. 1.

Tabela 1. Współczynnik przewodzenia i oporu cieplnego w modułach mroźniczym i chłodniczym
Coefficient of thermal conductivity and resistance in freezing and cooling modules

Grubość izolacji [mm]		Umieszczenie styroduru w modułach	Współczynnik przewodzenia ciepła [W/(m·K)]	Współczynnik oporu cieplnego [m ² ·K/W]	
w module mroźniczym	w module chłodniczym			modułu mroźniczego	modułu chłodniczego
70	60	boki	0,035	2,00	1,70
70	60	dno	0,035	2,00	1,70
50	50	tył	0,033	1,50	1,50
200	200	górze	0,036	5,50	5,50
60	60	drzwi	0,035	1,70	1,70

Następnie dobrano materiał wyłożenia wnętrza komór, spełniający wymagania do kontaktu z żywnością oraz gwarantujący odpowiednie uszczelnienie, zapewniające bezproblemowe otwieranie i zamykanie. Wyznaczono przenikalność cieplną korpusu urządzenia. Uwzględniając wszystkie przyjęte założenia oraz opracowaną konstrukcję, zbudowano prototyp korpusu modułów chłodniczego i mroźniczego.

3. WYMAGANIA DLA INSTALACJI CHŁODNICZYCH

Dla projektowanego urządzenia wybrano instalację chłodniczą na propan (R290). Właściwości tego czynnika, w świetle przepisów i prognoz Unii Europejskiej, są kluczowym argumentem do zastosowania w meblach chłodniczych komercyjnych, do których należy projektowany MainBox (paczkomat dla żywności).

Określono wydajność chłodniczą każdego z modułów, uwzględniając w nich: temperatury przechowywania +5°C i -18°C, pojemność urządzeń, ich izolację, a także przeznaczenie i umiejscowienie (warunki temperaturowe wewnątrz i na zewnątrz). Sumaryczną pojemność komór w jednym module określono na ok. 350 litrów (0,35 m³). Komercyjne meble chłodnicze posiadają najczęściej agregat o wydajności, odpowiednio dla układu chłodniczego – ok. 200 - 250 W, a dla układu mroźniczego – ok. 230 - 410 W. W ramach prac badawczych, na podstawie poboru mocy elektrycznej, wyznaczono wydajności:

- dla modułu chłodniczego 298 W, przy temperaturach: parowania -5°C, komory +2°C i otoczenia +40°C,
- dla modułu mroźniczego 410 W, przy temperaturach: parowania -25°C, komory -18°C i otoczenia +40°C.

Dostosowano instalację chłodniczą, poprzez zaprojektowanie odpowiednich zabezpieczeń (m.in. presostat, grzałka elektryczna), do zmiennych warunków środowiskowych (temperatur powietrza w zakresie od -20°C do $+35^{\circ}\text{C}$), gdyż moduły do przechowywania żywności będą montowane na zewnątrz budynków sklepowych. Presostat (czujnik pokazujący różnicę ciśnień z przekaźnikiem) utrzymuje ciśnienie w określonym zakresie na skraplaczu. Gdy ciśnienie spadnie poniżej ustalonej wartości zostanie wyłączony wentylator, a po przekroczeniu określonego ciśnienia włączony. Gdy temperatura otoczenia osiąga wartości minusowe, konieczne jest zastosowanie dodatkowej grzałki elektrycznej, która w przypadku modułu chłodniczego zabezpieczy przed spadkiem temperatury w komorach poniżej $+5^{\circ}\text{C}$, co pozwoli utrzymać w nich optymalną temperaturę przechowywania produktów.

3.1 CHARAKTERYSTYKA CZYNNIKA CHŁODNICZEGO ZASTOSOWANEGO W MODUŁACH

Począwszy od roku 2020 wszystkie urządzenia chłodnicze mogą być napełniane jedynie czynnikiem chłodniczym o niskim współczynniku tworzenia efektu cieplarnianego (GWP – Global Warming Potential). Takie wymagania spełnia propan o wskaźniku $\text{GWP}=3$ oraz zerowym potencjale niszczenia warstwy ozonowej (ODP – Ozone Depletion Potential), dzięki czemu nie wykazuje szkodliwego wpływu na środowisko [Grzebielec i in. 2017]. Jednocześnie, propan jako proekologiczny czynnik chłodniczy jest wydajnym ziębniakiem (posiada zbliżone właściwości do R22 - dwufluorochlorometanu, który jest obecnie wycofany z użycia).

Propan charakteryzuje się wysoką wydajnością energetyczną, dobrą pojemnością wolumetryczną i ma duże zakresy pracy sprężarki w porównaniu z czynnikami grupy HFC (obecnie wycofywanymi z zastosowań). Ograniczeniem w jego stosowaniu jest palność i wybuchowość. Klasyfikowany jest jako czynnik klasy bezpieczeństwa A3. Cechy te limitują jego stosowanie do małych układów chłodniczych, np. klimatyzatorów zainstalowanych na zewnątrz budynków oraz urządzeń handlowych hermetycznych i agregatów wody lodowej. Założono, że napełnienie w agregacie chłodniczym nie przekroczy 150 g propanu w celu zapewnienia bezpieczeństwa projektowanego urządzenia. Ponadto, zastosowano specjalne urządzenia elektryczne do pracy w atmosferze wybuchowej. Urządzenie MainBox jest dedykowane do działania na powietrzu w przestrzeni otwartej, co minimalizuje ryzyko powstania atmosfery wybuchowej w wypadku wycieku czynnika chłodniczego.

Na rysunkach 2 i 3 przedstawiono obiegi sprężarkowe jednostopniowe propanu (R290) (wykresy Moliera), odpowiednio dla modułu chłodniczego i mroźniczego. Cykl przemian termodynamicznych jakim podlega propan w instalacji jest następujący. Czynnik jako para sucha przegrzana (punkt 1) jest zasysany przez sprężarkę i następnie tłoczony od ciśnienia parowania (P_0) do skraplania (P_k), osiągając temperaturę tłoczenia (punkt 2). Następnie, gorąca para propanu jest schładzana w skraplaczu do temperatury skraplania (T_k), a po całkowitym skropleniu oraz przechłodzeniu opuszcza skraplacz, w postaci tzw. cieczy przechłodzonej (punkt 3). Ciecz ta jest rozprężana w zaworze termostatycznym (do ciśnienia parowania (P_0)) i jako para mokra (punkt 4) wpływa do parownika. Tam odparowując (przy stałym ciśnieniu (P_0)) i temperaturze parowania (T_k)) odbiera ciepło od powietrza chłodzonego oraz ulega przegrzaniu (punkt 1).

Poniżej przedstawiono dane charakterystyczne dla obiegów termodynamicznych modułu chłodniczego i mroźniczego, uwzględniając przyjęte założenia. Parametry do analizy dla modułu chłodniczego (+5°C) (rys 2.) są następujące:

- temperatura parowania: -10°C
- temperatura skraplania: +50°C
- wydajność chłodnicza: 389 W
- moc sprężarki: $P = 154$ W
- przegrzanie pary: 5 K
- przechłodzenie cieczy: 3 K

W wyniku analizy powyższych danych otrzymano:

- wydajność skraplacza: 543 W
- ciśnienie parowania: 3,45 bar
- ciśnienie skraplania: 17,085 bar
- spręż: 4,95
- różnica ciśnień: 13,635 bar
- współczynnik wydajności chłodniczej: 2,53
- temperatura tłoczenia około 65°C

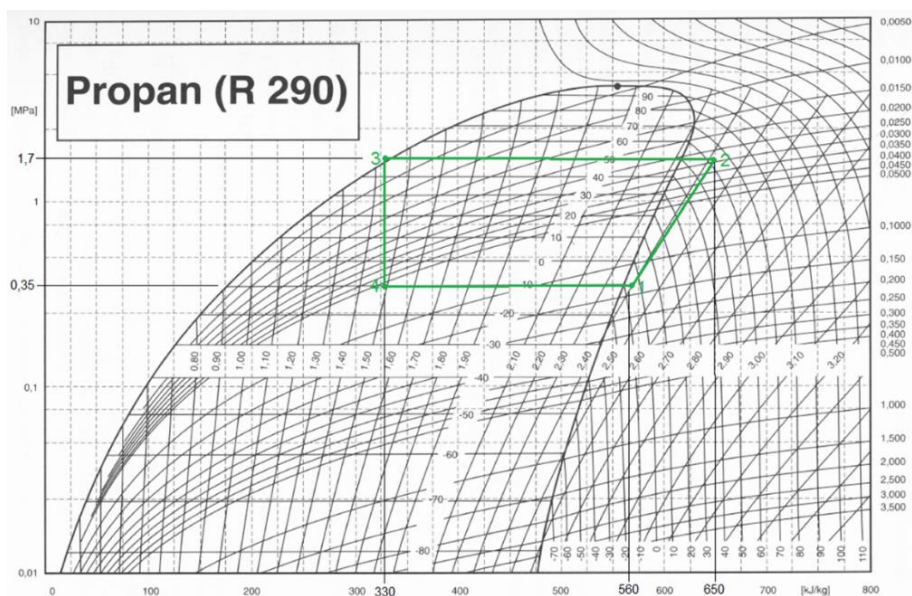
Odczytane z rysunku 3 parametry, do analizy obiegu dla modułu mroźniczego (-18°C) są następujące:

- temperatura parowania: -30°C
- temperatura skraplania: +50°C
- wydajność chłodnicza: 410 W
- moc sprężarki: $P = 314$ W

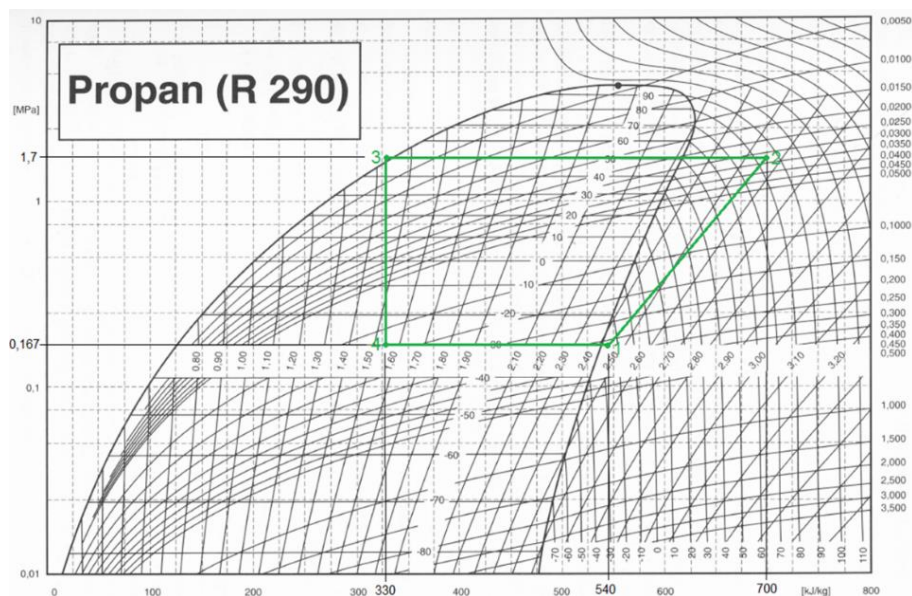
- przegrzanie pary: 5 K
- przechłodzenie cieczy: 3 K

W wyniku analizy powyższych danych otrzymano:

- wydajność skraplacza: 724 W
- ciśnienie parowania: 1,674 bar
- ciśnienie skraplania: 17,085 bar
- spręż: 10,2
- różnica ciśnień: - 15,411 bar
- współczynnik wyd. chłodniczej: 1,3
- temperatura tłoczenia około 85°C



Rysunek 2. Obieg sprężarkowy 1-stopniowy R290, moduł chłodniczy, przegrzanie 5 K, przechłodzenie 3 K, $Q_0 = 389$ W, $P = 154$ W, $t_0 = -10^\circ\text{C}$, $t_k = +50^\circ\text{C}$
R290 single stage compressor circuit, cooling module, superheat 5 K, subcooling 3 K, $Q_0 = 389$ W, $P = 154$ W, $t_0 = -10^\circ\text{C}$, $t_k = +50^\circ\text{C}$



Rysunek 3. Obieg sprężarkowy 1-stopniowy R290, moduł mroźniczy, przegrzanie 5 K, przechłodzenie 3 K, $Q_0 = 410$ W, $P = 314$ W, $t_0 = -30^\circ\text{C}$, $t_k = +50^\circ\text{C}$
R290 single stage compressor circuit, freezing module, superheat 5 K, subcooling 3 K, $Q_0 = 410$ W, $P = 314$ W, $t_0 = -30^\circ\text{C}$, $t_k = +50^\circ\text{C}$

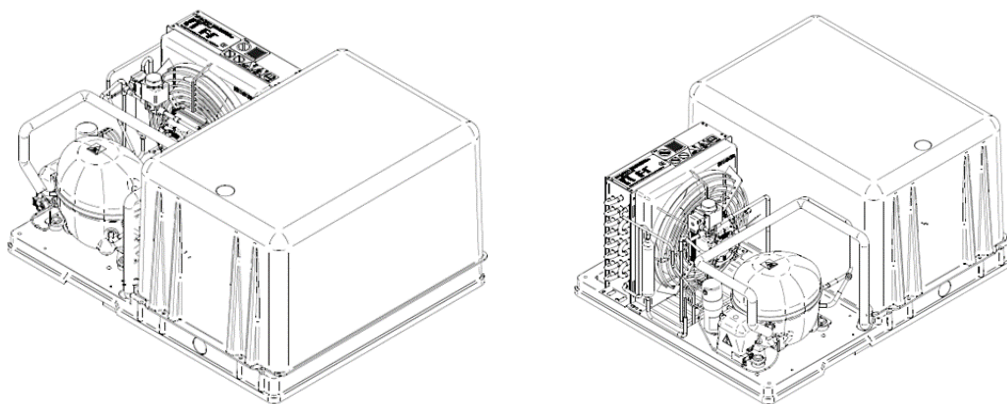
4. INSTALACJA CHŁODNICZA I JEJ USYTUOWANIE W MODUŁACH

Przy wyborze elementów instalacji chłodniczej uwzględniono założenia projektowe oraz możliwości umieszczenia ich w urządzeniu. Dobór elementów obiegu chłodniczego został zapoczątkowany koncepcją oddzielenia parownika od agregatu skraplającego. W trakcie prac uzyskano satysfakcjonującą ofertę na kompaktowe urządzenia do schładzania powietrza (monoblok), możliwe do wykorzystania w MainBox (rys. 4). Urządzenia te posiadają niezbędną certyfikację dostarczaną przez producenta. W oparciu o wytyczne Zakładu Technologii i Techniki Chłodnictwa IBPRS, na potrzeby prac projektowych i badawczych, producent dodatkowo doposażył urządzenia w presostaty zabezpieczające sprężarkę i kontrolujące ciśnienia skraplania oraz w grzałkę, która zapewnia możliwość dogrzewania modułu chłodniczego zimą.

Cały agregat chłodniczy jest zlokalizowany w górnej części modułu z wlotem powietrza do chłodzenia skraplacza usytuowanym z przodu i wylotem ciepłego w tylnej części. Takie umiejscowienie pozwala na swobodny dostęp do wszystkich elementów obiegu chłodniczego, i ułatwia obsługę serwisową. Urządzenia zastosowane dla poszczególnych modułów ($+5^\circ\text{C}$ i -20°C) składają się z następujących elementów:

- agregatu,
 - z presostatem do regulacji wentylatora skraplacza,
 - z presostatem ochronnym sprężarki HP/LP,

- z grzałką do podgrzewania – tylko dla modułu +5°C,
- grzałki elektrycznej do odszraniania 230 W,
- sterownika.



Rysunek 4. Wygląd monobloku chłodniczego i mroźniczego
Appearance of the cooling and freezing monoblock

Parowniki pracujące przy temperaturach parowania czynnika chłodniczego poniżej 0°C, zainstalowane w MainBox, powodowały wykraplanie się wilgoci z powietrza przepływającego przez wymiennik ciepła, zatem konieczne było opracowanie efektywnego systemu odszraniania. Krople wody osadzały się na lamelach parownika, a następnie zamarzając tworzyły szron. Woda w tej postaci stanowi doskonałą izolację cieplną, uniemożliwiającą wymianę ciepła, tj. blokuje chłodzenie. Chcąc temu zapobiec, zastosowano okresowe odszranianie przy pomocy grzałki elektrycznej o odpowiednio dużej mocy dla każdego z parowników, tj.: 230 W dla modułu chłodniczego i 530 W dla modułu mroźniczego.

W obydwu modułach dla każdego z boksów, zaprojektowano i wykonano system kontroli temperatury, układy zabezpieczające, automatykę i sterowanie układami chłodniczymi. Kontrola temperatury w poszczególnych boksach jest skorelowana z temperaturą powietrza powrotnego do agregatu chłodniczego, ponieważ powietrze wraca do agregatu chłodniczego wspólnym kanałem powrotnym. Jest to wartość uśredniona dla wszystkich boksów. Na podstawie odczytu tej temperatury sterownik lokalny modułu załącza i wyłącza pracę agregatu chłodniczego.

W celu ograniczenia wzrostu temperatury w poszczególnych boksach, zamontowano czujniki przy wszystkich otworach wylotowych powietrza z boksów. Jeśli temperatura powietrza powrotnego z jakiegokolwiek boksu przekroczy górną wartość zadaną, wtedy sterownik nadrzędny wymusi chłodzenie całego modułu, niezależnie od odczytu temperatury

we wspólnym kanale powrotnym. Po obniżeniu temperatury do wartości zadanej, sterownik nadrzędny zdejmie sygnał pracy wymuszonej agregatu chłodniczego i urządzenie wróci do pracy ze sterownikiem lokalnym na bazie temperatury powietrza w kanale powrotnym.

Zapewniono odpowiednią cyrkulację powietrza chłodzonego. Właściwa ilość powietrza schłodzonego dopływająca do poszczególnych boksów jest utrzymywana na odpowiedniej wartości poprzez ustawienie przysłon otworów nawiewnych lub powrotnych dla poszczególnych boksów i została zweryfikowana na etapie testowym poprzez pomiar temperatury powietrza wylotowego w poszczególnych boksach. Celem tej regulacji było uzyskanie jednakowej temperatury w każdym ze strumieni powietrza powrotnego z dokładnością $\pm 1^{\circ}\text{C}$.

Istotnym zagadnieniem było opracowanie optymalnego sposobu otwierania drzwi boksów. Opracowano rozwiązanie, w którym po wczytaniu właściwego kodu, blokada zamka jest znoszona i jednocześnie wyłączany agregat chłodniczy. Otwarcie drzwi powinno trwać jak najkrócej. W tym celu drzwi zaopatrzone w sygnał dźwiękowy, informujący o ich otwarciu oraz system samozamykający. Po upływie zbyt długiego czasu otwarcia drzwi, obsługa techniczna jest informowana o konieczności interwencji. Szczególne ryzyko występuje w module mroźniczym, w którym znajdujący się towar po rozmrożeniu, nie nadaje się do spożycia.

Dodatkowym problemem w module mroźniczym jest ryzyko przymarzania drzwi do obudowy z powodu pojawiania się wody lub szronu na ich krawędzi. Chcąc temu zapobiec należy na obrzeżach otworów boksów, w miejscu przylegania drzwi zamontować odpowiednią instalację grzewczą.



Rysunek 5. Urządzenie MainBox (paczkomat dla żywności) z układami chłodniczymi współpracującymi z automatyką i sterowaniem
MainBox device (food parcel locker) with cooling systems cooperating with automation and control

Rysunek 5 przedstawia urządzenie MainBox z układami chłodniczymi współpracującymi z automatyką i sterowaniem. Schładzanie boksów odbywa się poprzez nawiew schłodzonego powietrza z parownika kanałem wentylacyjnym, umieszczonym w tylnej części modułu oraz poprzez otwory nawiewne w tylnych ścianach boksów, natomiast boczne ściany boksów są zaopatrzone w kierownice powietrza. Powrót powietrza do parownika odbywa się poprzez otwory wywiewne w tylnych ścianach boksów i wspólnym kanałem powrotnym umieszczonym w tylnej części modułu (obok nawiewnego). Otwory nawiewne lub powrotne są wyposażone w elementy regulacji przepływu powietrza. Urządzenie chłodnicze schładzające powietrze jest zamontowane w górnej części modułu, co umożliwi dobre chłodzenie skraplacza i łatwy dostęp serwisowy. Takie rozwiązanie zwiększa bezpieczeństwo przeciwpożarowe na wypadek wycieku czynnika chłodniczego. Uniemożliwia także gromadzenie się czynnika w jednym miejscu, gdyż gęstość propanu jest większa od gęstości powietrza.

PODSUMOWANIE

Zapewnienie prawidłowych warunków przechowywania produktów rolno-spożywczych wymaga właściwego zaprojektowania urządzeń chłodniczych, które będą przyjazne środowisku oraz zapewnią ciągłość łańcucha chłodniczego. Przy konstrukcji urządzeń konieczne jest uwzględnienie polskich i unijnych aktów prawnych, które narzucają działania zmierzające do ograniczenia zagrożeń m. in. dziury ozonowej i efektu cieplarnianego. Zatem, stosowanie syntetycznych czynników chłodniczych (HFC) jest redukowane i dlatego, dla nowo projektowanych urządzeń dedykowane jest zastosowanie naturalnych czynników chłodniczych.

W projekcie "Przeprowadzenie prac badawczo - rozwojowych w firmie D&K Technology", Zakład Technologii i Techniki Chłodnictwa IBPRS w Łodzi wykonał prace badawcze, które umożliwiły skonstruowanie i zbudowanie innowacyjnego urządzenia MainBox. Produkt ten ma służyć przechowywaniu żywności w określonych warunkach temperaturowych i umożliwiać odbiór klientom zamówionych produktów spożywczych bez konieczności czekania na dostawcę.

W ramach prac badawczych, na podstawie wybranych założeń oraz wytycznych, opracowano konstrukcję korpusu urządzenia uwzględniając odpowiednie materiały, uszczelnienia, wielkości komór, budowę drzwi komór, niezbędne elementy sytemu chłodzenia i odprowadzenia skroplin oraz kontrolę temperatur wraz z automatyką i sterowaniem.

W systemie chłodniczym zastosowano naturalny czynnik chłodniczy – propan.

Uwzględniając właściwości czynnika opracowano innowacyjne rozwiązania dotyczące m. in. instalacji chłodniczej, monitoringu i regulacji temperatury, systemu bezpieczeństwa, wentylacji komór do przechowywania żywności.

MainBox, skonstruowany w projekcie, umożliwia zachowanie ciągłości łańcucha chłodniczego oraz odbiór produktów spożywczych w dogodnym czasie.

Praca została wykonana w Zakładzie Technologii i Techniki Chłodnictwa IBPRS-PIB przy współpracy w projekcie badawczym pn. „Przeprowadzenie prac badawczo - rozwojowych w firmie D&K Technology, mających na celu opracowanie innowacyjnego produktu MainBox, umożliwiającego odbiór produktów spożywczych bez konieczności czekania na dostawę”, finansowana ze środków Wielkopolskiego Regionalnego Programu Operacyjnego na lata 2014-2020. Działanie 1.2.

PIŚMIENNICTWO

1. Borrello M., Caracciolo F., Lombardi A., Pascucci S., Cembalo L. (2017). Consumers' Perspective on Circular Economy Strategy for Reducing Food Waste. Sustainability 9(1), 141, 1-18 (<https://doi.org/10.3390/su9010141>)
2. Grzebielec A., Rusowicz A., Szelągowski A. (2017). Zastosowanie czynnika chłodniczego R290 (propan) w instalacjach klimatyzacyjnych typu split w aspekcie bezpieczeństwa przeciwwybuchowego. Zeszyty Naukowe SGSP 61 (1), 107-119
3. James S.J., James C. (2010). The food cold-chain and climate change. Food Research International 43, 1944-1956
4. Radziszewska-Zielina E. (2009). Analiza porównawcza parametrów materiałów termoizolacyjnych mających zastosowanie jako izolacja ścian zewnętrznych. Przegląd budowlany 4, 32-37
5. Raport „E-grocery w Polsce - zakupy spożywcze online” (2018). <https://www.wirtualnemedial.pl/arttykul/zakupy-spozywcze-w-internecie-co-kupujacy-polacy-badanie> (30.09.2020)

ZJAWISKO BLOKOWANIA PRZEPLYWU FAZY WYSOKOCIŚNIENIOWEJ OLEJU RZEPAKOWEGO W UKŁADZIE KAPILARY POMIAROWEJ

**Roland Wiśniewski, Andrzej Rostocki, Stanisław Ptasznik, Teresa Wilczyńska-
Kitowska, Marcin Żukowski**

Institut Biotechnologii Przemysłu Rolno-Spożywczego im. prof. Wacława Dąbrowskiego
Państwowy Instytut Badawczy
ul. Rakowiecka 36, 02-532 Warszawa

roland.wisniewski@gmail.com

Streszczenie

Badania wysokociśnieniowych ciekłych lipidów, w szczególności olejów jadalnych, w ostatnich latach zostały szeroko rozwinięte na świecie przy wybitnym (dużym) udziale polskich badaczy. Praca pokazuje nowe podejście do problemów badania faz wysokociśnieniowych wspomnianych lipidów na przykładzie oleju rzepakowego, produkowanego w standardzie ostatnich lat. Do badań wykorzystano system komorowo-kapilarny. Wykryto plateau ciśnienia w fazie wysokiego ciśnienia uzyskane w procesie izochoryczno-izotermicznym. Plateau występował na początku dalszej kompresji lub na początku dekompresji (w komorze) w stałej temperaturze, ale obserwowany w kapilarnej części układu. Zjawisko to sugeruje, że istniał mechanizm blokujący przepływ oleju w kapilarze, co można wytłumaczyć Binghamowską naturą fazy wysokociśnieniowej oleju rzepakowego.

Słowa kluczowe: olej rzepakowy, wysokie ciśnienia, przemiany fazowe

THE PHENOMENON OF BLOCKING THE FLOW OF THE HIGH-PRESSURE PHASE OF RAPESEED OIL IN THE MEASURING CAPILLARY SYSTEM

Summary

Studies of high-pressure liquid lipids, in particular edible oils, in recent years have been widely developed in the world with the outstanding (large) participation of Polish researchers. The work shows a new approach to the problems of testing the high-pressure phases of the mentioned above lipids on the example of rapeseed oil, produced in the standard of recent years. A chamber - capillary system was used for the tests. A pressure plateau in high pressure phase obtained in the isochoric-isothermal process, was detected. Plateau was occurring at the

beginning of further compression or at the beginning of decompression (in the chamber) at a constant temperature but observed in the capillary part of the system. The phenomenon suggests that there was a blocking mechanism the flow of oil in the capillary, which could be explained by the Bingham nature of the high-pressure phase of rapeseed oil.

Keywords: rapeseed oil, high pressures, phase changes

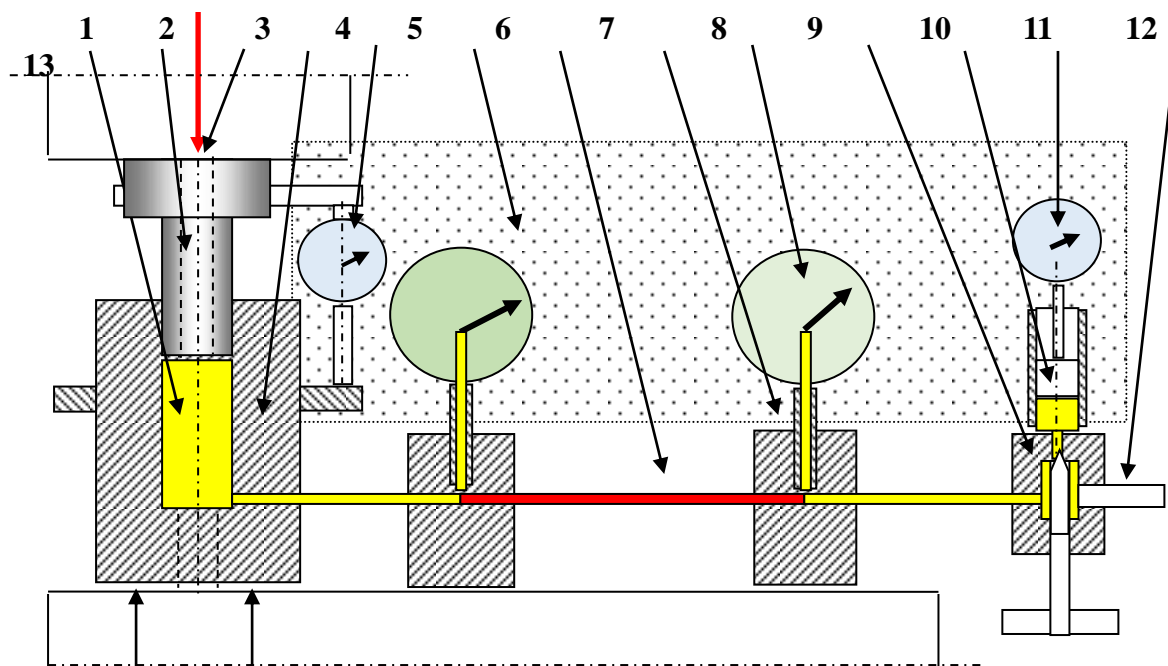
WSTĘP

Fizyka, chemia, biologia z jednej strony i wytwarzanie, metrologia, zastosowania technologiczne wysokich (bardzo, ultra) ciśnień, to obecnie ustalona problematyka, która miała (głównie) początek w działalności laureata Nagrody Nobla (1955 r.) Percy Williamsa Bridgmana. W Polsce rozwój tej problematyki zawdzięczamy głównie R. Wiśniewskiemu (Instytut Fizyki Politechniki Warszawskiej) i S. Porowskiemu (Instytut Fizyki Doświadczalnej Uniwersytet Warszawski) [Wiśniewski i in. 1980]. W perspektywicznej dziedzinie technologii przetwórstwa i konserwacji żywności, w szczególności ciekłych lipidów (olei jadalnych), Polacy odegrali istotną rolę [Zulkurmain i in. 2016; Siegoczyński i in. 2000; Wiśniewski i in. 1994; Rostocki i in. 2007; Wiśniewski, Wilczyńska 2020]. Przedmiotem niniejszej pracy jest nowe zjawisko – blokowania przepływu („ciśnieniowego plateau”) - obserwowane w wysokociśnieniowej fazie oleju rzepakowego o współczesnej technologii (z małą zawartością kwasu erukowego). Do badań użyto produktu handlowego (z pierwszego tłoczenia, kujawskiej wytwórni, 2019 r.). Wykonano analizę kwasów tłuszczowych (Tabela 1), pomiaru gęstości (0,910-0,915g/cm³), kwasowości (obojętny, pH = 7), rezystywności ($\rho > 1G \Omega m$), jak i typowych wielkości organoleptycznych. Zastosowano nieklasyczną metodykę badawczą uznając za pierwotne takie wielkości jak: temperatura i objętość a ciśnienie wynika z dwóch pierwszych parametrów (rozważanie nie dotyczy układów otwartych i ważkich). Ustalając w badaniach temperaturę – wszystkie nasze doświadczenia były izotermiczne (praktycznie quasi-izotermiczne), a podstawową pierwotną zmienną była objętość cieczy, zamkniętej w układzie komory wysokociśnieniowej. W sytuacji wyjściowej objętość układu komory była równa objętości naturalnej, próbki badanej cieczy, w ciśnieniu atmosferycznym. Wymuszana zmiana jej pierwotnej objętości wywoływała powstawanie odpowiedniego ciśnienia w cieczy, charakterystycznego dla danego rodzaju jej struktury, wiązań cząsteczkowych, oddziaływań międzycząsteczkowych, kształtu cząstek itp. Jest to niezależna zmienna - względna zmiana objętości ($-\Delta V/V_0$) wymuszona przemieszczeniem tłoczka (h) i zmienna zależna - ciśnienie (p). Do nowej wysokociśnieniowej fazy dochodzono w przebiegu izochoryczno-izotermicznym (po wywołaniu nadwyżki ciśnienia), a nie

w przemianie typowej: izobaryczno - izotermicznej. Do badań użyto aparatury stosowanej w nowej metodzie określania właściwości reologicznych wysokolepkich cieczy, jak opisanej w pracy Wiśniewski, Wilczyńska [2011, patent RP]. Innym rozwiązaniem byłoby zastosowanie np. precyzyjnej prasy śrubowej.

APARATURA BADAWCZA

Jak wspomniano we wstępie do badań przystosowano oryginalną aparaturę do badań reologicznych cieczy lepkich. Istotną zmianą w aparaturze było zastosowanie układu próżniowego przy ładowaniu układu badawczego badaną cieczą. Objętość początkowa (robocza) wynosiła $27,50 \pm 0,35 \text{ cm}^3$. Prawie połowa tej wartości ulokowana była poza wysokociśnieniowym układem tłok – cylinder, głównie w systemie kapilar ($d_w = 1,50 \text{ mm}$). Temperaturę cieczy utrzymywano w zakresie $23,0 \pm 2,0^\circ\text{C}$, co należy uznać za niekorzystne warunki eksperymentu, jednak nie mające istotnego znaczenia w tych badaniach. Układ badawczy nie był zautomatyzowany. W przypadku szybkich zmian parametrów stosowano zapis fotograficzny z późniejszym poklatkowym odczytem wskazań mierników. Do badań wymuszenia przemieszczenia (h) użyto prasy hydraulicznej o kontrolowanym ciśnieniu (p_p) i przemieszczenia się tłoczyska (h). Układ można traktować roboczo jako multiplikator ciśnienia ze współczynnikiem multiplikacji $k = 28,5 \pm 0,5$. Układ wysokociśnieniowy miał uszczelnienie Bridgmana typu II, z pocynowanymi pierścieniami mosiężnymi i uszczelkami typu O-ring wykonanymi z tworzywa „viton”, o $A_{\text{oeff}}^* = 3,1416 \text{ cm}^2$. Układ do ciśnień 5000 bar stanowił układ niskotarciowy zezwalający na orientacyjne wyliczenia ciśnienia w komorze wysokociśnieniowej na podstawie ciśnienia w używanej prasie hydraulicznej. Błąd pomiaru ciśnienia, w górnych jego wartościach, nie przekraczał 15 bar.



Rysunek 1. Schemat urządzenia do wyznaczania faz wysokociśnieniowych cieczy poprzez pomiar lepkości dynamicznej, zmian objętości i ciśnień rozpadu faz. 1 – badana ciecz, 2 – tłok wysokociśnieniowy, 3 – nacisk małowabarytowej prasy hydraulicznej, 4 – komora wysokociśnieniowa, 5 – zegarowy czujnik przemieszczeń tłoka, 6 – pole zdjęciowe, 7 – pomiarowa kapilara (200 mm długości, w przypadku pomiaru lepkości), 8 – elementy łącznikowe, 9 – manometry sprężynowe, 10 – precyzyjny spustowy zawór wysokociśnieniowy, 11,12 – przetwornik: objętość – przemieszczenie lub wysokociśnieniowy układ rozprężny sterowany silnikiem krokowym, 13 – połączenie z układem próżniowym gwarantującym pełne wypełnienie układu badaną cieczą

Diagram of the device for determining the high-pressure phases of the liquid by measuring dynamic viscosity, changes in volume and pressures of phase decay. 1 – tested liquid, 2 – high pressure piston, 3 – pressure of small hydraulic press, 4 – high pressure chamber, 5 – clock piston displacement sensor, 6 – photo field, 7 – measuring capillary (200 mm long, in the case of viscosity measurement), 8 – fasteners, 9 – spring pressure gauges, 10 – precision high pressure drain valve, 11,12 – volume transducer – displacement or high pressure expansion system controlled by stepper motor, 13 – connection to vacuum system guaranteeing full filling of the system with the test liquid

* Ciśnienie rzeczywiste p w komorze i siła F działająca na tłok wiąże równanie: $F = pA_{\text{eff}}$. To ostatnie, pole efektywne układu tłok-cylinder, jest wielkością wyliczalną (właściwością) metrologiczną układu.

Skład kwasów tłuszczowych badanego oleju, przed wysokociśnieniowymi badaniami przedstawiono w Tabeli 1. Nie wyznaczano składu po procesie otrzymywania faz wysokociśnieniowych, zakładając brak lub nikłe zmiany składu.

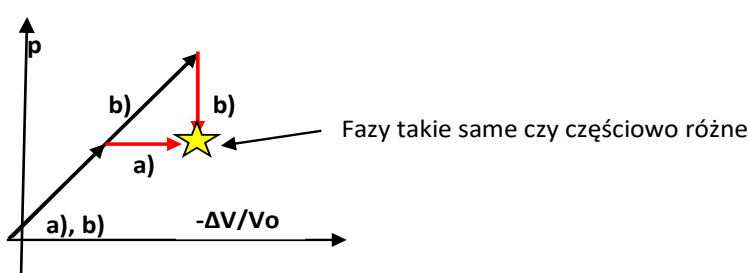
Schematy klasycznego i zastosowanego sposobu uzyskania fazy wysokociśnieniowej, przedstawiono na Rysunku 2. Powstawanie fazy wysokociśnieniowej w obu różnych

warunkach ($p = \text{const}$ i $V = \text{const}$.) może prowadzić do różnych konformacji cząstek oleju rzepakowego. Jako czynnik pierwotny przyjęto zmianę początkowej, naturalnej objętości cieczy V_0 , wymuszonej przemieszczeniem tłoka.

Tabela 1. Skład kwasów tłuszczowych w badanym oleju
Composition of fatty acids in investigated oil

Rodzaj kwasu tłuszczowego	Symbol	Udział, % wag.	
a)			
Mirystynowy (Miristic)	14:0	0,1	0,1
Palmitynowy (Palmitic)	16:0	4,5	5,0-5,2
Palmitoleinowy (Palmitoleic)	16:1	0,2	0,3
Margarynowy (Heptadecanoic)	17:0	0,1	
Heptadecenowy (Heptadecenoic)	17:1	0,1	
Stearynowy (Stearic)	18:0	1,7	2,2-2,5
Oleinowy (Oleic)	18:1 cis9	61,4	57,9-59,1
Oleinowy (Oleic)	18:1 cis11	3,0	
Oleinowy (Oleic)	18:1 trans	0,1	
Linolowy (Linoleic)	18:2	18,1	19,5-20,1
Linolowy (Linoleic)	18:2 trans	0,4	
Linolenowy (Linolenic)	18:3	7,6	9,8-10,4
Arachidowy (Arachidic)	20:0	0,5	1,5-2,8
Gadoleinowy (Gadoleic)	20:1	1,3	
Eikozadienowy (Eicosadienoic)	20:2	0,1	
Behenowy (Behenic)	22:0	0,3	0,3-1,5
Erukowy (Erucic)	22:1	0,3	
Lignocerynowy (tetracosenoic)	24:0	0,1	
Tetrakozenowy (13-tetracosenoic)	24:1	0,1	
		100,0	

a) Dane otrzymane przez Elżbietę Skrzyńską – Instytut Chemii i Technologii Organicznej, Politechnika Krakowska, Kraków

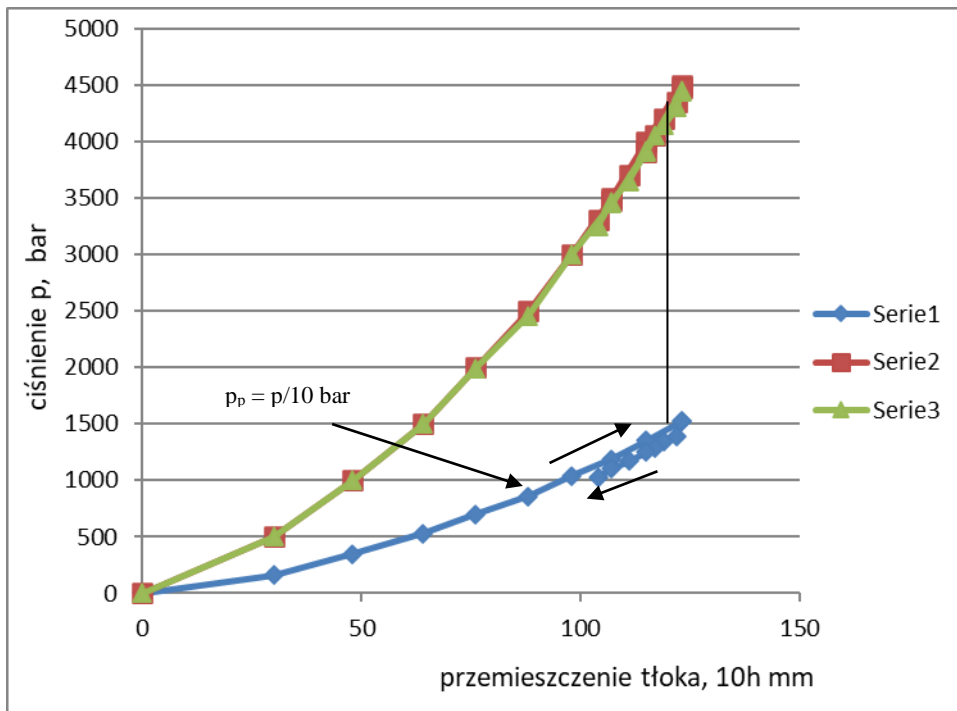


Rysunek 2. Przykład klasycznego sposobu rejestracji przejścia fazowego - a) i schemat sposobu zastosowanego w niniejszej pracy - b)
An example of a classic method of recording a phase transition - a) and diagram of the method used in this work - b)

WYNIKI BADAŃ ETAPOWYCH

Na Rysunku 3 przedstawiono zależności wysokiego ciśnienia (w oleju rzepakowym) i ciśnienia płynu hydraulicznego w prasie w przypadku quasi-izotermicznego sprężania oleju do ciśnienia gwarantującego wytworzenie się fazy wysokociśnieniowej i względnie szybki (częściowy) powrót układu do stanu wyjściowego. Z danych tych wynika dostatecznie dokładnie odwracalny przebieg sprężania i rozprężania oleju. Linia pionowa na tym rysunku

(i linie w dalszych rysunkach) ułatwiają tylko przyporządkowanie odpowiednich danych.



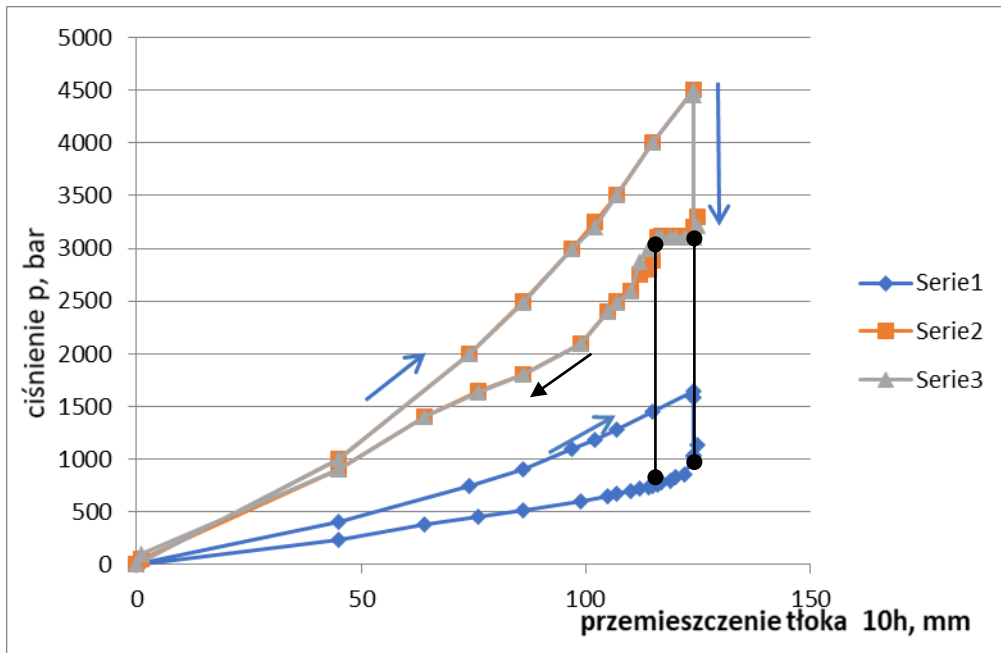
Rysunek 3. Przebieg eksperymentu bez wytwarzania fazy wysokociśnieniowej z tylko częściowym powrotem.

Oś rzędnych – wysokie ciśnienie wytwarzane w układzie, p bar, - seria 2 i 3 wskazania manometrów bliższego i dalszego od komory. Oś odciętych - przemieszczenie tłoka h (odpowiada temu - $\Delta V/V_0 = 0,1142h\%$). Dodatkowo podano wartość ciśnienia w prasie hydraulicznej $p_p = (p/10)$ bar - seria 1- wymuszające przemieszczenie h. (10bar = 1MPa)

The course of the experiment without producing a high-pressure phase. Elevation axis – pressure p bar (series 2 and 3 indication of pressure gauges closer and further from the chamber Abscissa axis presents: piston displacement h, (relative to this volume changes of investigated object - $\Delta V/V_0 = 0.1142n\%$). Additionally hydraulic press pressure $p_p = (p/10)$ bar, series 1) inducing displacement h is given

Na Rysunku 4 przedstawiono: zależności wysokiego ciśnienia w oleju rzepakowym i ciśnienia płynu hydraulicznego w prasie w przypadku quasi izotermicznego sprężania oleju do ciśnienia gwarantującego pełne wytworzenie się fazy wysokociśnieniowej (4500 bar), wytworzenie się fazy wysokociśnieniowej (po około 50 godz.) i również quasi-izotermiczny powrót układu do stanu wyjściowego. Z danych tych wynika, że obserwujemy na początku powrotu odcinek stałego ciśnienia (mierzonego w części kapilarowej przez dwa niezależne mierniki) a następnie powrót do stanu wyjściowego z charakterystyczną histerezą ciśnieniową, w pełnym cyklu badawczym. Ciśnienie charakterystyczne fazy wysokociśnieniowej oceniono na 3250 bar, jako najmniejsza wartość ciśnienia w procesie jej powstawania. We wcześniejszej pracy Rostocki i in. [2007] za ciśnienie przemiany uznano

ciśnienie 3700 i 3310 bar. Powodem dużej różnicy w pierwszym przypadku mogła być duża zawartość kwasu erukowego w badanym składzie olejów.



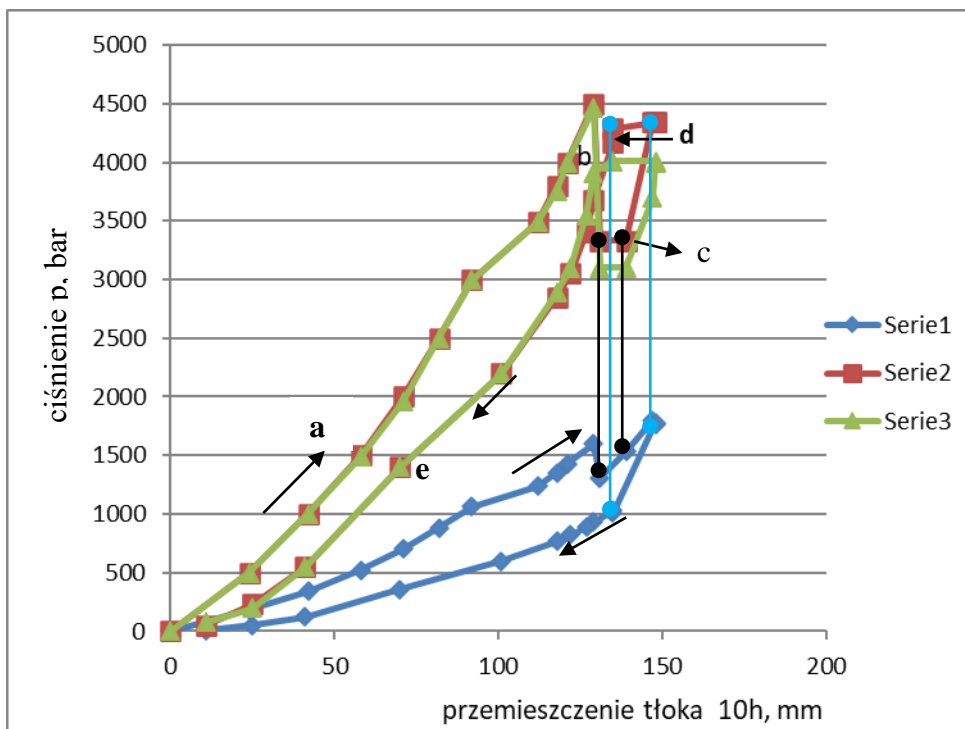
Rysunek 4. Prezentacja sytuacji bezpośredniego powrotu od fazy wysokociśnieniowej do fazy wyjściowej (więcej objaśnień, patrz Rys. 3). Dwie linie pionowe wyznaczają zakres stałego ciśnienia w kapilarze, rejestrowane przez dwa wysokociśnieniowe manometry

Presentation of the situation of direct return from the high-pressure phase to the starting phase (more explanations, see Figure 3). Two vertical lines determine the constant pressure range in the capillary, recorded by two high-pressure gauges.

Na Rysunku 5 przedstawiono pełny cykl badawczy wytworzenia wysokiego ciśnienia w oleju rzepakowym jako multiplikacja ciśnienia płynu hydraulicznego w prasie w przypadku pełnego cyklu badawczego. Etapy: a) quasi-izotermiczne sprężanie oleju do ciśnienia gwarantującego wytworzenie się fazy wysokociśnieniowej, b) wytworzenie się fazy wysokociśnieniowej (po 50godz.), c) sprężanie fazy wysokociśnieniowej z pierwszym odcinkiem stałego ciśnienia w układzie kapilary (pokazano tylko skrajne punkty „plateau”), d) rozprężanie układu z charakterystycznym drugim odcinkiem stałego ciśnienia i następnie, e) quasi-izotermiczny powrót układu do stanu wyjściowego. Czas wykonania całego eksperymentu wynosił około 100 godz. Z danych tych wynika, że obserwujemy praktycznie powrót do stanu wyjściowego z charakterystyczną histerezą ciśnieniową w pełnym cyklu badawczym. Z kolei z przeliczeń wysokiego ciśnienia w czasie obserwowanego pierwszego „plateau”, wynika, że się ono silnie zmienia, ale dotyczyć może to tylko obszaru w cylindrze. W kapilarze i w organach ciśnieniowo czułych manometrów Bourdona panuje ciśnienie takie jak po zakończeniu procesu przejścia fazowego. Podobna sytuacja ma miejsce w procesie

powrotu układu do stanu wyjściowego.

W czasie sprężania i rozprężania badanego oleju prędkość przepływu czynnika w cylindrze wysoko ciśnieniowym jest do zaniedbania, podczas gdy w części kapilarowej jest już znaczna (około 200 x większa) i zjawiska przepływu lepkiego mogą odgrywać tu rolę. W stanie stacjonarnym oba manometry pokazują tę samą wartość w praktycznie tym samym czasie (z małym, paromilisekundowym opóźnieniem). Odształcenie sprężyste układu grubościennego cylindra i nisko odpuszczanego stalowego tłoka, kapilar i elementów łączeniowych można uznać za zaniedbywalne.



Rysunek 5. Prezentacja pełnego eksperymentu: wytworzenie ciśnienia wstępnego (a), spontaniczne wytworzenie się fazy wysokociśnieniowej (b), sprężanie fazy wysokociśnieniowej z charakterystycznym pierwszym odcinkiem $p = \text{const}$ w objętości układu kapilary (c), powrót do fazy normalnej z drugim charakterystycznym odcinkiem $p = \text{const}$., (d, e). Oś rzędnych ciśnienie 10 bar = 1MPa. Seria 2 i 3 wskazania manometrów bliższego i dalszego od komory. Oś odciętych: przemieszczenie tłoka 10h, mm, towarzysząca względna zmiana objętości obiektu $-\Delta V/V_0 = 1,14h\%$. Wyjaśnienia serii 1 na Rysunku 3

Presentation of the full experiment: production of pre-pressure (a), spontaneous production of the high-pressure phase (b), compression of the high-pressure phase with the characteristic first section $p = \text{const}$. Two horizontal lines determine the constant pressure range in the capillary, recorded by two high-pressure pressure gauges (c), return to the normal phase with the second characteristic section $p = \text{const}$., (d, e). Elevation axis – pressure 10 bar = 1 MPa. Series 2 and 3 indication of pressure gauges closer and farther from the chamber. Abscissa axis: piston displacement 10h, mm, $-\Delta V/V_0 = 1.14h\%$. Explanation for Series 1, see Figure 3

INTEPRETACJA ZJAWISKA

Analiza przebiegów ciśnień oleju prasy hydraulicznej skorelowanych ze wskazaniami manometrów bourdonowskich (ulożonych w części kapilarowej) wskazuje na to, że w stanie fazy wysokociśnieniowej olej rzepakowy jest na tyle sztywnym ciałem stałym, że nie dopuszcza do pomiaru zmian ciśnienia w kapilarze doprowadzającej i w samych manometrach. Zachowane są pierwotne wskazania manometrów (blokowanie kapilary). Dopiero po silniejszym wymuszeniu tzn. wzrostu lub spadku ciśnienia w komorze wysokociśnieniowej równego około 570 bar (patrz Rys. 4 i 5) następuje jej odblokowanie. Wartość ta wynika z wyliczenia przy $\Delta p_p = 20$ bar, przy współczynniku multiplikacji $k = 28,5$ jako $(\Delta p_p)k$. Z drugiej strony, przy przemieszczeniu tłoka o 1,2 cm (z zaniedbywalną zmianą długości tłoka, z wyliczenia 0.06 mm) z wyliczonej średniej ściśliwości fazy podstawowej oleju rzepakowego w zakresie ciśnień 0 – 4000 bar: $\kappa = -\Delta V/V_0, p = 3,14 \cdot 0,069 / 27,2 \cdot 4500 = 3,33 \cdot E-5 \text{ bar}^{-1}$. Mianowicie przyrost wysokiego ciśnienia w komorze, przy obserwowanym pierwszym „plateau” wynosi $\Delta p = -\Delta V/V_0 \kappa = 3,14 \cdot 0,069 / 0,5 \cdot 27,2 \cdot 3,33 E-5 = 478$ bar i dochodzi do upłynnienia w systemie kapilarnym fazy wysokociśnieniowej oleju. Przy drugim „plateau”, ciśnienie upłynniające wydaje się być dużo większe, co można uzasadnić zjawiskiem histerezy. W stanie zablokowania kapilary faza wysokociśnieniowa jest fazą stałą i posiada wytrzymałość na ścinanie, wg naszych wstępnych wyliczeń, co najmniej 50 bar. Faza wysokociśnieniowa oleju rzepakowego może być przykładem cieczy z rodzaju cieczy Binghama o bliżej nieznannej strukturze. Sprężanie olejów kameliowego i innych w klasycznej, wysokiej komorze, z pomiarem ciśnienia po przeciwnej stronie tłoka wysokociśnieniowego nie stwarzało warunków powstawania przepływu lepkiego i spóźnionej odpowiedzi czujnika ciśnień na ruch tłoka. Również użyty czujnik manganinowy w fazie wysokociśnieniowej, będącej bliską stanowi stałemu, może wykazywać nieregularności. Dlatego w poprzednich naszych badaniach takiego efektu nie obserwowano.

Prezentowane wyniki należy uznać za interesujące, jednak wskazane jest powtórzenie eksperymentu oraz wykonanie badań nad istotą faz wysokociśnieniowych, stopniem ich krystalizacji, rodzajem uporządkowania, właściwościami reologicznymi itp.

PODSUMOWANIE

Autorzy niniejszej pracy przewidują rekonstrukcję komory wysokociśnieniowej wbudowując (dodatkowo) w tłok i w podstawę komory czujniki tensometryczne, mierzące ciśnienie pod tłokiem i na dnie komory, przy ujściu kapilary, zaznaczone liniami

przerywanymi oraz powtórzenie eksperymentów również z olejem kameliowym wykazującym silny wzrost lepkości po operacjach ciśnieniowych. Znajomość modeli strukturalnych faz wysokociśnieniowych oleju rzepakowego – dynamiki jego przejścia fazowego są niezbędne do właściwej interpretacji obserwowanego w naszych badaniach efektu „plateau”. Pewne elementy symulacji dynamiki molekularnej (przebiegów fazowych), w pracach polskich laboratoriów, można znaleźć - między innymi - w pracy [Tefelski 2013].

The authors of this paper envisage the reconstruction of the high-pressure chamber by embedding (additionally) strain gauges in the piston and in the base of the chamber, measuring the pressure under the piston and at the bottom of the chamber, at the mouth of the capillary, marked with dashed lines, and repeating experiments also with camellia oil showing a strong increase in viscosity after pressure operations. Knowledge of structural models of the high-pressure phases of rapeseed oil the dynamics of its phase transition – is essential for the proper interpretation of the "plateau" effect observed in our research. Some elements of molecular dynamics simulation (phase transitions), in the work of Polish laboratories, can be found, among others, in the work [Tefelski 2013].

PODZIĘKOWANIA

Autorzy niniejszej pracy dziękują prof. dr hab. inż. Arturowi Hugo Świergielowi za wsparcie idei zorganizowania Laboratorium Badań Ciśnieniowych na terenie IBPRS-PIB, umożliwiając tym kontynuację naszych poprzednich badań silnie związanych z atrakcyjnym kierunkiem - w szczególności dla IBPRS-PIB - wysokociśnieniowej technologii konserwacji żywności.

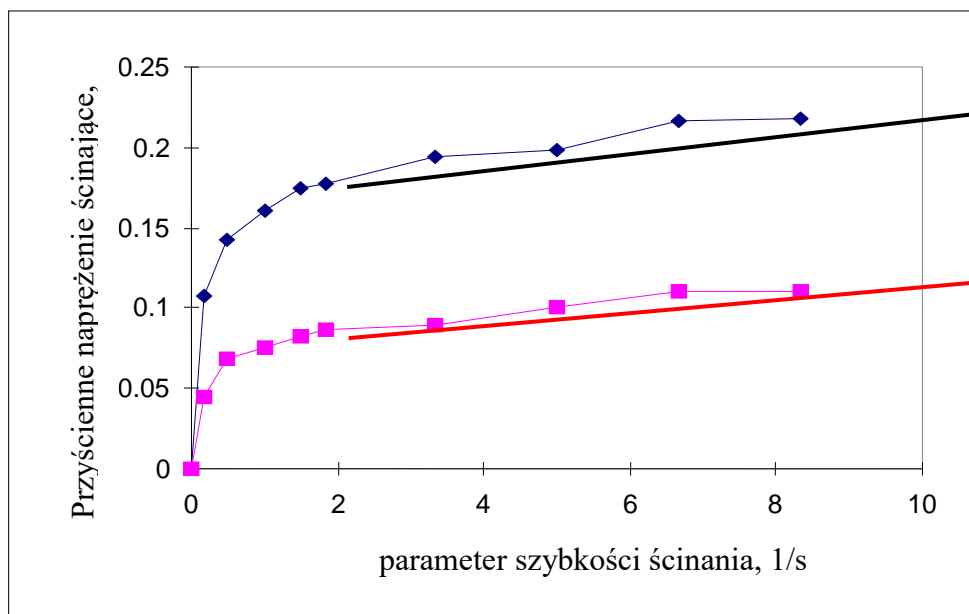
PIŚMIENNICTWO

1. Dziubiński M., Kiljański T., Sęk J. (2014). Podstawy teoretyczne i metody pomiarowe reologii. Monografie Politechniki Łódzkiej
2. Kaneko F., Yano J., Sato K. (1998). Diversity in the fatty-acid conformation and chain packing of cis-unsaturated lipids. *Curr. Opin. Struct. Biol.* **8** (4), 417-25
3. Rostocki A.J., Wiśniewski R., Wilczyńska-Kitowska T. (2007). High pressure phase transition in rape seed oil. *J. Mol. Liq.* **135**, 120-122
4. Siegoczyński R.M., Jędrzejewski J., Wiśniewski R. (1989). Long time relaxation effect of liquid castor oil under high pressure condition. *High Press. Research* **1**, 225-301

5. Tefelski D.B. (2013). Badania dynamiki przemian fazowych wywołanych wysokim ciśnieniem w wybranych glicerydach i kwasach tłuszczowych (rozprawa doktorska), Politechnika Warszawska, Wydział Fizyki
6. Wiśniewski R., Rostocki A. J., Rajski K., Bock W. (1980). High Pressure – Generation, Measurement and Application. A monography, pp. 328. State Publishers for Science and Technology (WNT), Warszawa, ISBN 8320401844.
7. Wiśniewski R., Jędrzejewski J., Siegoczyński R.M., Tkacz A. (1994). Volume changes of castor oil during its transformation to the high pressure phase. High Pressure Research 11, 385-395
8. Wiśniewski R., Wilczyńska T. (2011). High pressure phase analyzing rheometer for high viscosity liquids. Patent PL, No. 222567
9. Wiśniewski R., Wilczyńska T. (2012). Lepkościomierz rotacyjny z pierwotnym pomiarem momentu sił lepkich w rotacyjnym lepkościomierzu. Patent PRL No. 12345678
10. Wiśniewski R., Wilczyńska T. (2020). Solidification phenomenon in camellia oil under high pressure at room temperature. Postępy Nauki i Technologii Przemysłu Rolno-Spożywczego, 75, (3-4), 5-13
11. Zulkurnain M., Maleky F., Balasubramaniam V. M. (2016). High pressure processing effects on lipids thermophysical properties and crystallization kinetics. Food Engineering Reviews 8, 393-413

DODATEK - APPENDIX

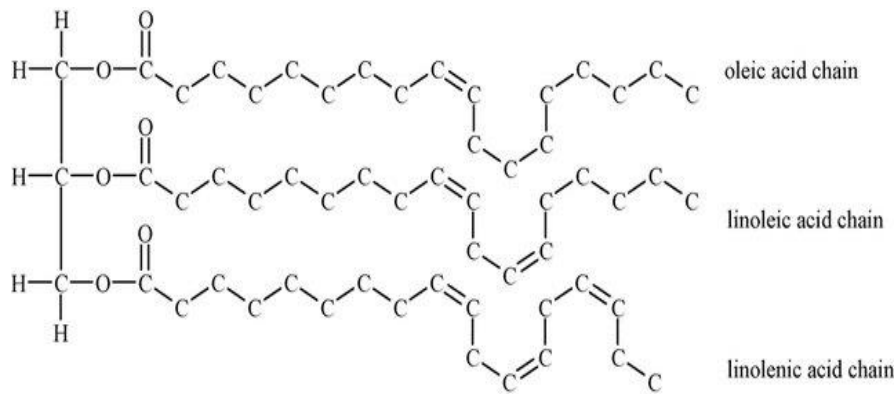
Badania wcześniejsze (Wiśniewski, Wilczyńska 2012) wykazały, że fazy wysokociśnieniowe olejów rycynowego i rzepakowego, są w przybliżeniu (wspomnianymi wyżej), ciałami Bingham (Dziubiński i in. 2014). Na Rysunku 7 pokazano zależności naprężeń stycznych w zależności od prędkości ścinania, otrzymanych przy użyciu specjalnego lepkościomierza.



Rysunek 6. Zależność przyściennej naprężenia stycznych (τ) w zależności od szybkości ścinania ($d\gamma/dt$) w procesie pomiaru lepkości dynamicznej faz wysokociśnieniowych olejów rycynowego (kolor czarny) i rzepakowego (kolor czerwony) [Wiśniewski, Wilczyńska 2012]

The relationship of the contact stresses (τ) according to the shear rate ($d\gamma/dt$) in the process of measuring the dynamic viscosity of the high-pressure phases of castor oils (black) and rapeseed (red) [Wiśniewski, Wilczyńska 2012]

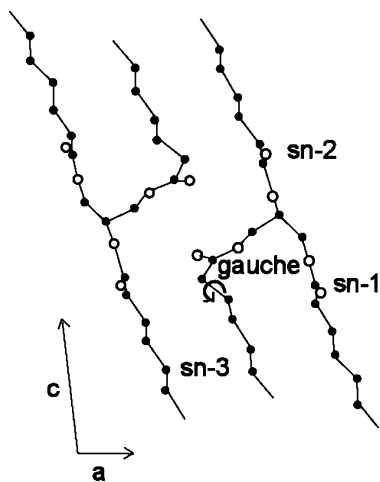
Budowa dużej ilości cząsteczek oleju rzepakowego może być taka jak pokazano na Rysunku 7. Nie znana jest konformacja tych obiektów w procesie zestalania się oleju pod wysokim ciśnieniem, np. czy ma postać konformacji krzeselkowej, jak w przypadku trójoleinianu, czy też inną postać [Kanekoi in. 1998]. Nietypowa konformacja oleju rzepakowego może być również źródłem nietypowego zachowania się oleju rzepakowego, po jego zestaleniu wysokociśnieniowym, w opisywanych w tej pracy przemianach.



Rysunek 7. Przykład struktury cząstki oleju rzepakowego składającej się z trzech głównych kwasów tłuszczowych i bazy glicerydowej i jej hipotetyczna konformacja w fazie stałej. Poniżej upakowanie molekularne w pobliżu szkieletu glicerolu w fazie β nasyconych TAG po konformacji

Example of a rapeseed oil particle structure consisting of three main fatty acids and a glycerol base and its hypothetical conformation in solid state. Below molecular packing in the vicinity of the glycerol backbone in the β -phase of saturated TAGs after conformation

Model roboczy (the working model)



Model uproszczony (simplified model)



Rysunek 8. Konformacja skośna (konformacja \pm synklinalna) (Kaneko i in. 1998)
Gauche conformation (Kaneko et al. 1998)

NASIONA CHMIELOWE JAKO ŹRÓDŁO ZWIĄZKÓW BIOAKTYWNYCH DLA PRZEMYSŁU KOSMETYCZNEGO ORAZ SPOŻYWCZEGO

Jana Stepnevská

SCF Natural Sp. z o.o., Centrum Produkcyjno-Logistyczne

Suchodoły 120, 21 060 Fajslawice

jstepnevská@scfnatural.pl

Streszczenie

W artykule omówiono wyniki badania podstawowych cech fizykochemicznych produktów przetwórstwa nasion chmielu, a mianowicie oleju ekstrahowanego heksanem i tłoczonego na zimno, śruty poekstrakcyjnej i wyłoków chmielowych oraz lecytyny chmielowej. Przeprowadzone badania wykazały przydatność wykorzystania tych produktów w przemysłach kosmetycznym oraz spożywczym. Przedstawiono wyniki badań metodą chromatografii gazowej składu poszczególnych kwasów tłuszczowych w olejach z nasion chmielu. Ocena zawartości wszystkich zidentyfikowanych kwasów tłuszczowych w olejach z nasion chmielu oraz oleju konopnego potwierdziła ich podobieństwo. Badania wykazały, że zawartość białka w śrucie chmielowej oraz wyłokach chmielowych wynosi odpowiednio 42% i 44%. Pokazano perspektywę wykorzystania produktów przetwórstwa nasion chmielu w branży kosmetycznej oraz omówiono możliwości ich wykorzystania w przemyśle spożywczym.

Słowa kluczowe: chmiel zwyczajny (*Humulus lupulus* L.), olej z nasion chmielu, kwasy tłuszczowe, śruta chmielowa, wyłoki chmielowe, lecytyna

HOP SEEDS AS A SOURCE OF BIOACTIVE COMPOUNDS FOR THE COSMETIC AND FOOD INDUSTRY

Summary

The article discusses the results of research on the basic physicochemical properties of hop seed processing products, namely hexane-extracted and cold-pressed oil, extraction meal and hop pomace, and hop lecithin. The conducted research has shown the usefulness of the use of these products in the cosmetics and food industries. The paper presents the results of

the gas chromatographic research on the composition of individual fatty acids in hop seed oils. The assessment of the content of all identified fatty acids in hop seed oils and hemp oil confirmed their similarity. Studies have shown that the protein content in hop meal and hop pomace is 42% and 44%, respectively. The prospect of using hop seed processing products in the cosmetics industry is shown and the possibilities of their use in the food industry are discussed.

Keywords: hops (*Humulus lupulus* L.), hop seed oil, fatty acids, hop middling's, hop pomace, lecithin

WSTĘP

Chmiel zwyczajny (*Humulus lupulus* L.) jest podstawowym surowcem do produkcji piwa, w mniejszym zakresie jest też wykorzystywany w przemyśle kosmetycznym, medycznym oraz farmaceutycznym [Agacka, Skomra 2012; Szczepaniak i in. 2019]. W ciągu ostatnich kilkudziesięciu lat potencjał tej unikalnej rośliny, jako źródła bioaktywnych metabolitów wtórnych, został bardzo dobrze opisany [Gołąbczak, Gendaszewska-Darmach 2010; Jelínek i in. 2010; Mikyška, Krofta 2012; Karabin i in. 2016; Mikyška, Jurková 2019], ale wciąż pozostaje dużo do zbadania.

Wiadomo, że jednym z wymogów do certyfikacji chmielu uprawianego w Polsce dla branży browarniczej jest nieprzekroczenie w surowcu poziomu zaziarnienia. A mianowicie, maksymalna dopuszczalna zawartość nasion do masy chmielu „niezaziarnionego” to 2%. Restrykcje te uregulowane są w podstawowych aktach prawnych [Dz.U. UE L 355/72 z 15.12.2006] dotyczących rynku chmielu w Polsce i Europie, w tym zasady certyfikacji chmielu i produktów chmielowych. Występujące w nasionach chmielowych związki bioaktywne powodują skrócenie terminu przydatności do spożycia piwa, zmianę jego smaku i aromatu, a także mogą wywołać nadmierne pienienie oraz gushing wtórny, tj. niekontrolowane wypienianie się piwa po otwarciu naczynia [Harrison 1971; Kavanaugh i in. 1975; Mastanjević i in. 2017]. Dlatego zaziarnienie jest traktowane jako zanieczyszczenie, produkt uboczny nieprawidłowej uprawy chmielu.

W odniesieniu do zaziarnienia chmielu obserwuje się zmienne tendencje w zależności od sezonu zbioru. Według danych IJHARS w minionym sezonie 2019–2020 obecność nasion przekraczającą 2% masy, stwierdzono w przypadku 61% masy chmielu certyfikowanego. W sezonie wcześniejszym 2018–2019 natomiast, chmiel zaziarniony stanowił 35% masy chmielu certyfikowanego [Trojnar 2020].

Zawartość nasion w chmielu goryczkowym takich odmian jak Magnat, Iunga, Hallertauer

Tradition i Magnum w minionym sezonie 2019-2020 dochodziła do 20%. Biorąc pod uwagę fakt, że zawartość oleju w nasionach chmielu stanowi 25%, bez wyeliminowania nasion z 1 kg surowca do piwa może trafić 50 g oleju, co powoduje wyżej wymienione procesy. Po wyeliminowaniu z chmielu liści, łodyg i nasion wydajność granulowania obniża się prawie o 20%, czego konsekwencją jest wzrost ceny gotowego produktu (granulatu T 90, granulatu T 45, ekstraktu chmielowego). Do kosztów produkcyjnych doliczany jest również koszt utylizacji odpadów.

Zarówno chmiel (*Humulus*), jak i konopie (*Cannabis*) należą do jednej rodziny konopiowatych (*Cannabaceae*), a zatem mają ze sobą pewne cechy wspólne. Jednak, podczas gdy olej z nasion konopi jest dobrze zbadany i powszechnie używany, to nie można tego powiedzieć o oleju z nasion chmielu. Badania Kavanagh i in. [1975] co prawda wykazały podobieństwo składu tego oleju do oleju konopnego, ale brak jest danych dotyczących podstawowych parametrów olejów ekstrahowanych/tłoczonych na zimno z nasion chmielu, takich jak liczba jodowa, liczba kwasowa, gęstość oraz parametrów organoleptycznych.

Do najbardziej znaczących związków bioaktywnych dla przemysłów kosmetycznego, spożywczego oraz farmaceutycznego należą wielonienasycone kwasy tłuszczowe, które stanowią materiał wyjściowy do biosyntezy eikozanoidów, prostaglandyn, prostacyklin, tromboksanów i leukotrienów. Biorą one udział w transporcie i utlenianiu cholesterolu, są także składnikami lipidów błon komórkowych. Powszechnie znaną właściwością nienasyconych kwasów tłuszczowych Omega-3 i Omega-6 jest ich pozytywny wpływ na układ krążenia [Kochman 2012]. Kwasy tłuszczowe z rodziny Omega-6 wspomagają leczenie choroby wrzodowej żołądka i dwunastnicy, otyłości i cukrzycy. Obecnie podkreśla się istotny wpływ kwasów Omega-3, szczególnie DHA – kwasu dokozaheksaenowego, na rozwój mózgu oraz wzroku zarówno w okresie płodowym jak i po urodzeniowym. Podkreśla się rolę kwasów tłuszczowych Omega-3 w profilaktyce chorób wieku podeszłego. W literaturze zostało też dokładnie opisane pozytywne działanie wielonienasyconych kwasów tłuszczowych na skórę oraz ich rola w kosmetyce [Bojarowicz, Woźniak 2008; Zielińska, Nowak 2014].

W związku z perspektywą wdrożenia technologii przetwórstwa nasion chmielu w Centrum Produkcyjno-Logistycznym SCF Natural przeprowadzono badania zmian poziomu zaziarnienia chmielu uprawianego w Polsce w latach 2015–2020.

Badanie poszczególnych kwasów tłuszczowych w olejach z nasion chmielu powinno również pozwolić na wskazanie możliwości ich wykorzystania w różnych branżach przemysłowych. Dlatego celem pracy było badanie poziomu zaziarnienia chmielu

uprawianego w Polsce oraz badanie związków bioaktywnych nasion chmielu i ich produktów przetwórstwa które mają potencjał wykorzystania w przemyśle kosmetycznym i spożywczym.

MATERIAŁ I METODY BADAŃ

Materiał do badań stanowiły różne odmiany chmielu ze zbiorów 2015-2020 zakontraktowanego przez spółkę SCF Natural Sp. z o.o., Centrum Produkcyjno-Logistyczne, Suchodoły 120, 21-060 Fajslawice.

Szyszki chmielu zbierano w fazie dojrzałości technologicznej, certyfikowano zgodnie z procedurą zawartą w rozporządzeniu i do czasu przetwarzania przechowywano w zamkniętych opakowaniach w temperaturze nie wyższej niż +5°C.

Nasiona wydzielano na każdym etapie produkcji granulatów chmielowych i do czasu ich przetwarzania przechowywano w temperaturze nie wyższej niż +5°C.

Olej z nasion chmielu ekstrahowano heksanem w ekstraktorze Soxhleta oraz tłoczono na zimno z użyciem prasy ślimakowej i oczyszczano metodą filtracji.

Badania olejów obejmowały ocenę zawartości wszystkich zidentyfikowanych kwasów tłuszczowych (jakościową i ilościową) metodą chromatografii gazowej. Skład kwasów tłuszczowych w olejach ekstrahowanym i tłoczonym zbadano w Centralnym Laboratorium Badawczym Uniwersytetu Przyrodniczego (CLB UP) w Lublinie metodą chromatografii gazowej z detektorem płomieniowo-jonizacyjnym (GC-FID), akredytowaną przez Polskie Centrum Akredytacji (PCA): nr akredytacji AB 1375.

Oznaczanie liczby jodowej badanego oleju przeprowadzono według normy PN-ISO 3961, liczby kwasowej wg PN-ISO 660, gęstości w 20°C wg PN-EN ISO 12185, współczynnika załamania światła wg PN-EN ISO 6320.

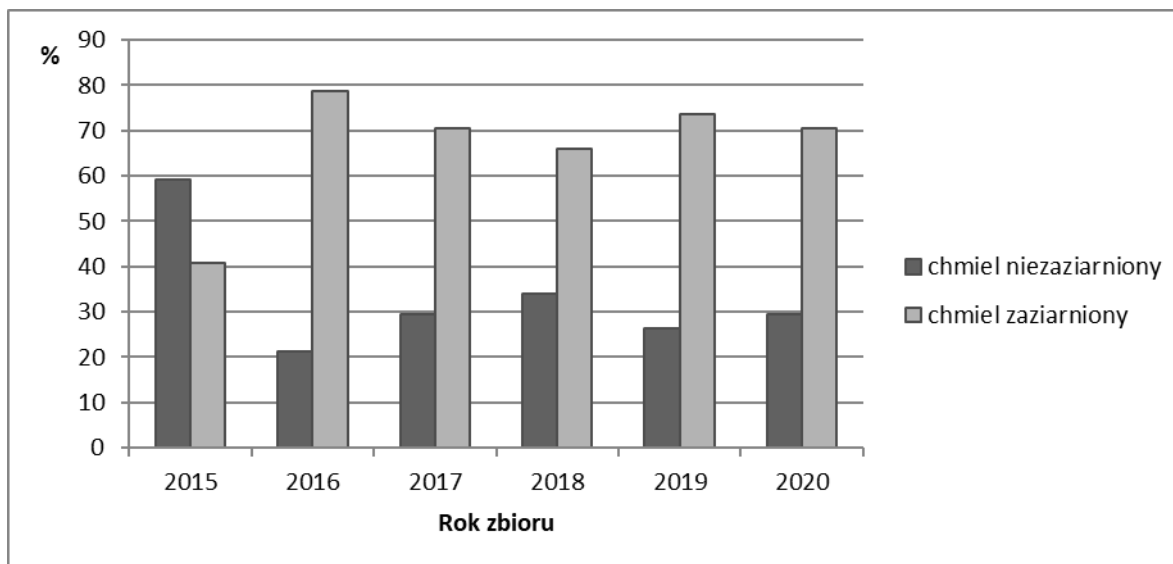
Śruta poekstrakcyjna i wytłoczyny zbadano w CLB UP metodami akredytowanymi: zawartość białka oznaczono metodą Kjeldahla, zawartość tłuszczu metodą Soxhleta wg PN-ISO 6492 i zawartość włókna surowego metodą wagową.

WYNIKI I DYSKUSJA

W całym okresie badań obserwowano wzrost zawartości nasion w chmielu nieprzygotowanym (Rysunek 1). Niestety, uprawiany w Polsce chmiel wyróżnia się bardzo wysokim poziomem zawartości nasion – 14-16%.

Odnotowano, że zaziarnienie jest cechą odmianową. W całym okresie badań każdy chmiel dostarczany od plantatorów takich odmian goryczkowych jak: Magnat, Zula, Puławski

oraz odmian aromatycznych: Perle, Lomik, Hallertauer Tradition, był zaziarniony. Z kolei surowiec odmian Marynka i Lubelski ze zbiorów w latach 2015-2020 wyróżniał się ogólnie niskim poziomem zanieczyszczeń nasionami chmielu. W odniesieniu do obecności nasion w odmianach Hallertauer Magnum i Sybilla obserwuje się zmienne tendencje w zależności od sezonu zbioru i warunków prowadzenia plantacji.



Rysunek 1. Procentowy udział zaziarnienia chmielu ze zbiorów 2015-2020 zakontraktowanego przez spółkę SCF Natural
Percentage of the graining of various hop varieties from the 2015-2020 harvest contracted by the company SCF Natural Ltd.

Podczas analizy procentowego udziału nasion w surowcu odmian aromatycznych i goryczkowych 2015 roku zbioru wyliczono, że poziom zaziarnienia nie przekroczył 11%. Chmiel odmian Marynka i Lubelski był niezaziarniony.

Od 2016 roku obserwowany jest wzrost zawartości nasion w chmielu bez względu na jego odmianę. Szyszki chmielu ze zbioru w 2016 roku odmian Lomik, Magnat, Hallertauer Magnum i Hallertauer Tradition miały wysoki poziom zawartości nasion, tj. 16,2%, 15,4%, 13,4% i 12,1%, odpowiednio. W surowcu ze zbioru w 2017 najwyższy poziom zawartości nasion miały odmiany chmielu Lomik – 15,7% i Lubelski – 12,2%, ze zbioru w 2018 roku odmiany Magnat- 14,5% i Magnum – 12,2%, w 2019 roku zbioru Magnat – 16,0%, Lomik – 14,3%, Magnum – 12,2% i Tradition – 12,2%, natomiast ze zbioru w 2020 roku odmiana Sybilla – 13,0%.

Analizując procentowy udział nasion chmielu wykazano, że bez względu na odmianę w całym okresie badań dostrzegana jest tendencja wzrostowa. Według naszych danych wśród

certyfikowanego chmielu w minionych sezonach 2019-2020 i 2020-2021 obecność nasion przekraczającą 2% masy stwierdzono w przypadku odpowiednio 73,6% i 70,5% masy chmielu.

Określono procentową zawartość każdej grupy odpadów poprodukcyjnych w wyżej wymienionych sezonach. Procentowa zawartość nasion chmielu w odniesieniu do całkowitej zawartości odpadów poprodukcyjnych pochodzenia roślinnego stanowiła 53-58%.

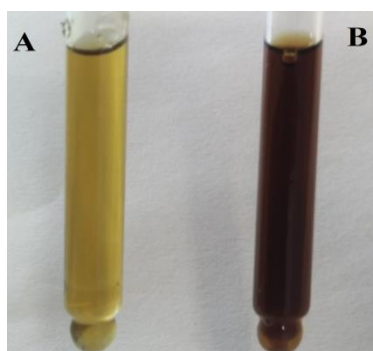
Warto podkreślić, że razem ze wzrostem powierzchni upraw chmielu w Polsce, w ciągu ostatnich pięciu lat powierzchnia wzrosła o 22%, obserwuje się także wzrost przetwarzanej masy chmielu w Polsce [Trojnar 2020] i w konsekwencji wzrost masy odpadów poprodukcyjnych w przemyśle przetwórczym zajmującym się produkcją produktów chmielowych. Dlatego postanowiono wdrożyć technologię przetwórstwa nasion chmielu w Spółce SCF Natural w celu realizacji polityki minimalizującej ilości wytwarzanych odpadów poprzez racjonalną gospodarkę. Kompleksowe przetwarzanie nasion chmielu dzięki połączeniu technologii produkcji oleju i zagospodarowania odpadów poprodukcyjnych powinno zagwarantować najlepsze rezultaty tej polityki.

Najtańszą i najprostszą metodą otrzymywania oleju jest tłoczenie na zimno. W olejach tłoczonych w temperaturze do 50°C zachowane są wszystkie bioaktywne składniki nasion i należy on do najbardziej naturalnych.

Uzyskany w ten sposób olej oczyszczany jest jedynie za pomocą filtracji. Taki olej nie jest klarowny, co jest przedstawione na rysunku 2. B, gdyż pozostają w nim różnego rodzaju zanieczyszczenia (zawiesiny, woda oraz wolne kwasy tłuszczowe z silną tendencją do utleniania). Olej ma brązową barwę i jest bardzo zanieczyszczony lecytyną, co z jednej strony zwiększa jego wartość energetyczną oraz odżywczą, ale z drugiej skraca termin przechowywania gotowego produktu. Wpływa to na przyspieszone jełczenie oraz zwiększenie liczby kwasowej. Skutkiem tego procesu jest powstawanie lotnych kwasów i aldehydów o nieprzyjemnym zapachu, dlatego olej tego typu przydatny jest do spożycia maksymalnie przez 6 miesięcy. Charakteryzuje się on naturalnym smakiem i wyrazistym zapachem, co może być dla wielu osób zbyt intensywne. Tłoczenie na zimno sprawia, że produkt może być stosowany jedynie na zimno, gdyż w procesie podgrzewania mogą wydzielać się szkodliwe substancje, a mianowicie izomery trans kwasów tłuszczowych. Utlenianie jest główną przyczyną pogarszania jakości olejów podczas przechowywania, doprowadza do strat wartości żywieniowej i niekorzystnych cech sensorycznych [Skwarek i in. 2013].

Inną technologią produkcji oleju jest ekstrahowanie. Jako rozpuszczalnika powszechnie używa się heksanu. Po procesie usuwa się rozpuszczalnik zarówno ze śrut, jak i tzw. misceli

(olej z rozpuszczalnikiem) i uzyskuje się śrutę poekstrakcyjną i olej ekstrakcyjny. Pozwala to na uzyskanie bardzo wysokiej wydajności w produkcji, jednak otrzymany produkt jest pozbawiony niektórych cennych składników odżywczych, jak α - i γ -tokoferoli oraz fosfolipidów, występujących w oleju tłoczonym [Zadernowski i in. 2002, Cichosz, Czeczot 2011]. Taki olej jest klarowny barwy żółtej, rysunek 2. A, ma bardzo delikatny smak i przyjemny orzechowy aromat. Parametry organoleptyczne oraz fizykochemiczne, a mianowicie gęstość, liczba kwasowa, liczba jodowa i współczynnik refrakcji, w ciągu 18 miesięcy przechowywania oleju w temperaturze 20°C pozostają bez zmian.



Rysunek 2. Olej z nasion chmielu: A – ekstrahowany heksanem, B – tłoczony na zimno (fot. Stepnevskaja)
Hops seed oil: A - hexane extracted, B - cold pressed (photo Stepnevskaja)

Podczas badań przeprowadzona została ocena zawartości wszystkich zidentyfikowanych kwasów tłuszczowych metodą chromatografii gazowej z detektorem płomieniowo-jonizacyjnym w olejach z nasion chmielu wyprodukowanych w drodze ekstrahowania i tłoczenia na zimno oraz dla porównania oleju konopnego, także ekstrahowanego heksanem [Kiralán i in. 2010].

Tabela 1. Skład kwasów tłuszczowych w olejach z nasion chmielu i konopi
Composition of fatty acids in hop and hemp seed oils

Parametr (nazwa zwyczajowa/ systematyczna/symbol numeryczny)	Skład, %		
	Olej chmielowy ekstrahowany	Olej chmielowy tłoczony	Olej konopny ekstrahowany*
Kwas mirystynowy/tetradekanowy /C14:0	0,046	0,050	0,040
Kwas palmitynowy / heksadekanowy / C16:0	5,450	5,580	6,140
Kwas palmitooleinowy / (Z)-9- heksadekaenowy /C 16:1n7	0,028	0,060	0,130
Kwas stearynowy / oktadekanowy /C18:0	2,484	2,520	2,460
Kwas oleinowy / (Z)-9-oktadekaenowy + Kwas elaidynowy / (E)-9-oktadekaenowy/ C 18:1n9 (c+t)	9,955	11,320	14,500
Kwas linolowy / (Z,Z)-9,12- oktadekadienowy +Kwas linoleoidonowy (E)-9,12-oktadekadienowy/ C18:2n6 (c+t)	49,719	50,220	56,230
Kwas γ -linolenowy (/ (Z,Z,Z)-6,9,12- oktadekatrienowy /C18:3n6 (gamma)	7,341	-	1,100
Kwas trans-linolenowy / (E,E,E)-9,12,15- oktadekatrienowy /C18:3n3 (alpha)	13,375	16,790	17,400
Kwas stearydonowy/ C18:4	-	-	0,47
Kwas arachidowy / ikozanowy /C20:0	0,315	0,340	0,660
Kwas eikozenowy /C20:1	-	-	0,370
Kwas -(Z,Z)-11,14-eikozadienowy/ C20:2n6	0,130	0,140	0,050
Kwas -(Z,Z,Z)-8,11,14-eikozadienowy/ C20:3n6	-	0,020	-
Kwas -(Z,Z,Z)-11,14,17-eikozadienowy/ C20:3n3	-	0,020	-
Kwas behenowy / dokozenowy / C22:0	0,185	0,190	0,240
Kwas erukowy / Z -13- dokozenowy / C22:1n9	0,046	0,030	0,160
Kwas erukowy / Z,Z -13,16- dokoziadienowy/ C22:2n6	-	0,020	-
Kwas -/ Z-4,7,10,13,16,19 dokozaheksaenowy/ C22:6n3	0,019	0,030	-
Kwas -/ trikozanowy /C23:0	0,037	0,050	-
Kwas lignocerynowy/ tetrakozanowy/C24:0	-	-	0,100

* Źródło: [Kiralan i in. 2010]

W tabeli 1 przedstawiono wyniki badań składu poszczególnych kwasów tłuszczowych w olejach z nasion chmielu i konopi, z których wynika, że najbardziej zróżnicowany skład ma olej z nasion chmielu tłoczony na zimno – 16 różnych kwasów nasyconych, jednonienasyconych oraz wielonienasyconych. Udział procentowy każdej grupy tych kwasów w olejach z nasion chmielu i konopi oraz sumy kwasów Omega - 3, - 6, - 9 i inne parametry

charakterystyczne podano w tabeli 2, gdzie SFA – nasycone kwasy tłuszczowe, MUFA – jednonienasycone kwasy tłuszczowe, PUFA – wielonienasycone kwasy tłuszczowe. Dane dla oleju konopnego: metody ekstrahowania, przygotowania estrów metylowych i analizy kwasów tłuszczowych są identyczne do badań olejów z nasion chmielu [Kiralan i in. 2010, GOST 8989-73 2011].

Wiadomo, że grupa SFA, zwłaszcza kwasy palmitynowy, mirystynowy i laurynowy, w mniejszym stopniu stearynowy, podwyższają stężenie cholesterolu (LDL) w lipoproteinach o niskiej gęstości. Niektóre nasycone kwasy tłuszczowe mogą być także czynnikiem sprzyjającym rozwojowi nowotworów. Nasycone kwasy tłuszczowe nie mają również szerokiego zastosowania w kosmetologii [Zielińska, Nowak 2014]. Ich zawartość wahała się od 8,73% w oleju chmielowym tłoczonym na zimno do 9,19 % w oleju chmielowym ekstrahowanym w ogólnej zawartości kwasów tłuszczowych. Zawartości tych kwasów w badanych olejach były niższe w porównaniu do oleju konopneg (tabela 1). Wśród kwasów nasyconych główną pozycję stanowił kwas palmitynowy, obecny w olejach chmielowych ekstrahowanych – 5,45% i tłoczonych na zimno – 5,58%. Kwas stearynowy występował we wszystkich olejach w mniejszych ilościach – około 2,5%. Zawartości innych kwasów tłuszczowych nasyconych wynosiły poniżej 1%. Kwasy arachidowy i behenowy występowały w ilościach odpowiednio – 0,34% i 0,19%. Kwas mirystynowy wykryto w olejach chmielowych w śladowych ilościach – około 0,05%.

Tabela 2. Parametry fizykochemiczne olejów z nasion chmielu i konopi
Physicochemical parameters of hop and hemp seed oils

Parametr fizykochemiczny	Olej chmielowy ekstrahowany	Olej chmielowy tłoczony	Olej konopny ekstrahowany *
Zawartość SFA, %	9,19	8,73	9,60 ¹⁾
Zawartość MUFA, %	10,82	11,41	15,20 ¹⁾
Zawartość PUFA, %	76,15	67,24	75,20 ¹⁾
Zawartość Omega-3, %	14,45	16,84	17,40 ¹⁾
Zawartość Omega-6, %	61,70	50,40	57,38 ¹⁾
Zawartość Omega-9, %	10,79	11,35	15,03 ¹⁾
Gęstość 20°C, g/cm ²	0,920-0,935	0,935-0,955	0,925-0,928 ²⁾
Liczba kwasowa, mg KOH/g	6,2±0,5	20,5±1,5	4,5±0,5 ²⁾
Liczba jodowa, g J ₂ /100g	170±0,7	175±0,8	140-167 ²⁾
Współczynnik refrakcji, n _{20°C}	1,485	1,495	1,480 ²⁾

* Źródło: ¹⁾Kiralan i in. 2010, ²⁾GOST 8989-73 2011

Wiele badań przeprowadzonych z udziałem ludzi wskazuje, że jednonienasycony kwas oleinowy występujący w znaczących ilościach w olejach roślinnych chroni przed rozwojem zmian miażdżycowych [Kiralan i in. 2010]. Do najbardziej znaczących w kosmetologii i medycynie nienasyconych kwasów tłuszczowych można także zaliczyć: kwas palmitooleinowy, kwas erukowy i kwas nerwonowy [Zielińska, Nowak 2014].

W badanych olejach wśród kwasów jednonienasyconych w największej ilości występował kwas oleinowy – 9,96% w oleju ekstrahowanym i 11,32% w tłoczonym na zimno. Zawartości kwasu oleinowego w badanych olejach były niższe w porównaniu z olejem konopnym (Tabela 1). Zaobserwowano także małą zawartość kwasów palmitooleinowego i erukowego: odpowiednio 0,03% i 0,05% w oleju chmielowym ekstrahowanym, a także 0,06% i 0,03% w oleju chmielowym tłoczonym na zimno.

Olej chmielowy ekstrahowany, w porównaniu do oleju tłoczonego na zimno, zawierał większe ilości wielonienasyconych kwasów tłuszczowych – 76,2% w ogólnej zawartości kwasów tłuszczowych. Jednocześnie zawartość kwasu γ -linolenowego, który ma większe znaczenie dla branży kosmetycznej i farmaceutycznej, jest w nim najwyższa – 7,9%. Głównym wyizolowanym z olejów kwasem polienowym był kwas linolowy. Największe jego ilości zaobserwowano w oleju chmielowym tłoczonym na zimno – 50,22%.

Wskazano, iż taki wysoki stopień nienasycenia sprawia, że takie oleje są wyjątkowo

wrażliwe na jęłczenie oksydacyjne, więc mają stosunkowo krótki okres trwałości [Kiralan i in. 2010, Skwarek i in. 2013].

Jednym ze wskaźników jakości olejów jest nie tylko poziom zawartości wielonienasyconych kwasów tłuszczowych rodziny Omega-3, ale jego proporcja do kwasów Omega-6. Mając na uwadze biologiczne działanie kwasów Omega -3 i 6 na organizm człowieka uznaje się, że prawidłowa proporcja kwasów Omega - 6 do Omega - 3 powinna wynosić 3-4:1 [Kochman 2012]. Badane oleje miały bardzo zbliżone proporcje do tego „złotego stosunku”. W olejach chmielowym ekstrahowanym heksanem i tłoczonym na zimno stosunek Omega - 6 do Omega - 3 wynosi odpowiednio 4,3:1 i 3,0:1.

Porównując właściwości oleju otrzymanego w wyniku tłoczenia oraz olej uzyskany poprzez ekstrakcję heksanem ustalono, że podstawowe cechy fizykochemiczne charakteryzujące oleje są zbliżone. Z jednej strony olej tłoczony na zimno charakteryzował się lepszą jakością od oleju ekstrahowanego, ponieważ posiadał większą liczbę jodową i gęstość (Tabela 2). Jednak obecność dużych ilości wolnych kwasów tłuszczowych w oleju tłoczonym wpływa na wysoki poziom wskaźnika liczby kwasowej – 20,5 mg KOH/g. Uzyskane wyniki badań dotyczące składu kwasów tłuszczowych i stabilności olejów z nasion chmielu pozyskiwanych w różny sposób pokrywają się z danymi uzyskanymi przez innych autorów [Zadernowski i in. 2002; Kiralan i in. 2010].

Przy pozyskiwaniu oleju z nasion chmielu powstają inne pozostałości poprodukcyjne. Śruta poekstrakcyjna oraz wytloki chmielowe są także źródłem związków bioaktywnych. Jednak, chociaż śruty sojowa, słonecznikowa i rzepakowa są głównymi składnikami wytwarzanych w Polsce pasz [Brzóska 2010; Fiedorowicz i in. 2013; Niwińska i in. 2019], to śruta chmielowa nigdy nie była rozpatrywana jako surowiec paszowy. Nie znaleziono żadnej informacji o używaniu śruty poekstrakcyjnej chmielowej oraz wytlóków chmielowych w składzie pasz.

Bilansując dawkę pokarmową należy znać zawartość składników pokarmowych komponentów wchodzących w skład surowców do pasz. Podstawowe składniki pokarmowe to białko ogólne, tłuszcz i węglowodany. Analizę porównawczą składu śruty sojowej, słonecznikowej, rzepakowej oraz chmielowej i wytloczyn chmielowych podano w tabeli 3. Skład śruty sojowej, słonecznikowej i rzepakowej to dane przytoczone z literatury [Brzóska 2010; Fiedorowicz i in. 2013].

Tabela 3. Porównanie składu śruty sojowej, słonecznikowej, rzepakowej, chmielowej i wyłok chmielowych
Comparison of the composition of soybean meal, sunflower meal, rapeseed meal, hop and expeller

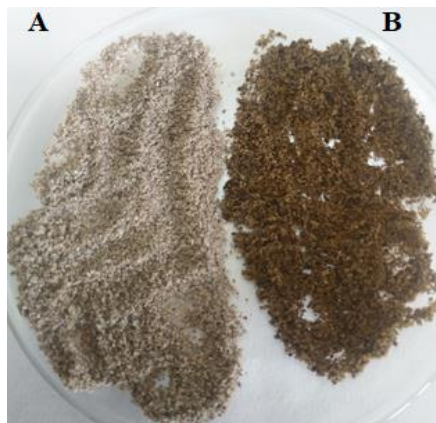
Składnik	Śruta sojowa*	Śruta słonecznikowa*	Śruta rzepakowa*	Śruta chmielowa	Wyłoki chmielowe
Sucha masa [%]	93,7 ¹⁾	93,0 ¹⁾	93,2 ¹⁾	95,7	93,5
Białko ogólne [%]	47 ²⁾	33 ²⁾	38 ²⁾	42	44
Tłuszcz surowy [%]	1,0 ¹⁾	2,8 ¹⁾	2,4 ¹⁾	14,3	15,5
Włókno surowe [%]	3,8 ¹⁾	17,5 ¹⁾	11,2 ¹⁾	21,6	15,9

* Źródło: ¹⁾Brzóska 2010, ²⁾Fiedorowicz i in. 2013

Jak wynika z tabeli 3, śruty rzepakowa, sojowa, słonecznikowa, chmielowa oraz wyłoki chmielowe różnią się między sobą zawartością białka i innych składników pokarmowych. Wszystkie komponenty są z powodzeniem stosowane w żywieniu zwierząt, przy czym śruta rzepakowa i słonecznikowa są stosowane częściej jako surowce do pasz, ponieważ są dużo tańsze w porównaniu do śruty sojowej.

Ze względu na to, że udział wysokobiałkowych pasz roślinnych definiowanych jako wytworzone bez wykorzystania GMO w krajowym rynku pasz rośnie [Niwińska i in. 2019], śruta chmielowa oraz wyłoki chmielowe mogą być rozpatrywane jako zamienniki materiałów wysokobiałkowych pasz. Zawartość białka w śrucie chmielowej oraz wyłokach chmielowych jest nieco mniejsza w porównaniu do składu śruty sojowej, ale większa od śrut słonecznikowej i rzepakowej.

Branża kosmetyczna rozwija się bardzo szybko i ciągle poszukuje nowych surowców oraz nowych technologii. Surowce browarnicze są od lat używane w kosmetologii, chociaż ostatnio stosuje się je w sposób niestandardowy [Pal i in. 2019]. Ponieważ śruta poekstrakcyjna chmielowa jak i wyłoki chmielowe są źródłem związków biologicznie aktywnych, dlatego mają olbrzymi potencjał do zastosowania w kosmetyce. Stosowanie śruty jak i wyłoków [Kumider 1996] do produkcji mydeł, kremów, żeli, peelingów wpływa korzystnie na: wygładzenie skóry, jej zmiękczenie, poprawienie kolorytu [Nawirska i in. 2007], usunięcie martwego naskórka, pobudzenie krążenia skóry oraz przygotowanie jej do lepszego wchłaniania się pozostałych komponentów kosmetyków [Nowak i in. 2014]. Ze względu na strukturę oraz skład śruty i wyłoków chmielowych przewidywane jest ich działanie złuszczące, wygładzające, pielęgnujące. Kolor oraz stopień rozdrobnienia śruty poekstrakcyjnej i wyłok chmielowych przedstawiono na rysunku 3.



Rysunek 3. Zdjęcie śruty poekstrakcyjnej chmielowej (A), wytlók chmielowych (B) (fot. Stepnevskaja)
Photo of hop extraction meal (A), hop expeller (B) (photo Stepnevskaja)

Produktem przetwórstwa nasion chmielu jest również lecytyna. Lecytyna chmielowa jest brązową substancją o lepkiej, plastycznej konsystencji, ma gęstość 1,1- 1,2 g/cm², rozpuszcza się w etanolu i olejach roślinnych, w wodzie natomiast pęcznieje. Obecnie kosmetyki zawierają trzy podstawowe odmiany lecytyny: sojową, słonecznikową oraz rzepakową. Lecytyna z nasion chmielu jeszcze nie jest stosowana na rynku kosmetycznym.

Należy pamiętać, że lecytyna chmielowa jest substancją bardzo nietrwałą, wykazuje wysoką podatność na procesy degradacji (utleniania), co wiąże się z obecnością w jej budowie nienasyconych kwasów tłuszczowych.

WNIOSKI

W pracy przedstawiono potrzebę wdrożenia technologii przetwórstwa nasion chmielu, zwłaszcza w zakładach produkujących granulaty i ekstrakty chmielowe dla branży browarniczej z uwagi na realizację celów polityki minimalizacji wytwarzanych odpadów poprzez racjonalną gospodarkę. Technologia pozwala dwukrotnie zmniejszyć ilość odpadów poprodukcyjnych pochodzenia roślinnego.

Analiza składu poszczególnych kwasów tłuszczowych w olejach z nasion chmielu pozyskiwanych w wyniku tłoczenia na zimno i ekstrahowania heksanem potwierdziła ich podobieństwo.

Stwierdzono, że olej tłoczony na zimno charakteryzuje się naturalnym smakiem i wyrazistym zapachem ma silną tendencją do utleniania i może być stosowany jedynie na zimno.

W oleju chmielowym tłoczonym na zimno w porównaniu z olejem ekstrahowanym stwierdzono niższą zawartość kwasów nasyconych odpowiednio – 8,7% i 9,2%.

Wykazano, że olej chmielowy ekstrahowany, w porównaniu do oleju tłoczonego na zimno,

zawiera większe ilości kwasów wielonienasyconych odpowiednio – 76,2% i 67,2%.

Badania wykazały, że zawartość białka w śrucie chmielowej oraz wyciekach chmielowych wynosi odpowiednio 42% i 44%.

Przeprowadzone badania podstawowych cech fizykochemicznych produktów przetwórstwa nasion chmielu, a mianowicie oleju ekstrahowanego heksanem i tłoczonego na zimno, śruty poekstrakcyjnej i wycieków chmielowych wykazały przydatność wykorzystania tych produktów w przemyśle kosmetycznym oraz spożywczym.

PIŚMIENNICTWO

1. Agacka M., Skomra U. (2012). Chmiel jako źródło bioaktywnych metabolitów wtórnych dla przemysłu piwowarskiego i farmaceutycznego. *Studia i raporty IUNG-PIB*, 31(5), 39-50
2. Bojarowicz H., Woźniak B. (2008). Wielonienasycone kwasy tłuszczowe oraz ich wpływ na skórę. *Probl. Hig. Epidemiol.*, 89 (4), 471-475
3. Brzóska F. (2010). Możliwości zastosowania śruty i makuchu rzepakowego w żywieniu zwierząt. *Informator Krajowego Zrzeszenia Producentów Rzepaku*, 32-36
4. Brzóska F. (2010). Tabele składu chemicznego i wartości pokarmowej pasz krajowych (wyd. III). IZ PIB, Kraków
5. Cichosz G., Czeczot H. (2011). Stabilność oksydacyjna tłuszczów jadalnych – konsekwencje zdrowotne. *Bromat. Chem. Toksykol.*, 44(1), 50–60
6. Dz.U. UE L 355/72 z 15.12.2006. Rozporządzenie Komisji (WE) nr 1850/2006 z dnia 14 grudnia 2006 r. ustanawiające szczegółowe zasady certyfikacji chmielu i produktów chmielowych
7. Fiedorowicz E., Sobotka W. (2013). Poekstrakcyjna śruta sojowa a alternatywne źródła białka roślinnego dla trzody chlewnej. *Przegląd Hodowlany*, 4, 14-17
8. Gołąbczak J., Gendaszewska-Darmach E. (2010). Ksantohumol i inne prenyloflawonoidy szyszek chmielu – aspekty biologiczne i technologiczne. *Biotechnologia*, 1(88), 82-96
9. GOST 8989-73 (2011). Hempseed oil. Specifications. Moskov, Standartinform, 110-114
10. Harrison J. (1971) Effect of hop seeds on beer quality. *J. Inst. Brew.*, 77, 350-352
11. Jelínek L. Sneider M., Karabin M., Dostalek P. (2010). Comparison of Czech hop cultivars based on their contents of secondary metabolites. *Czech J. Food Sci.*, 28(4), 309-316

12. Karabin M, Hudcova T., Jelinek L., Dostalek P. (2016). Biologically active compounds from hops and prospects for their use. *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.*, 15(3); doi:10.1111/1541-4337.12201
13. Kavanagh T. E., Greenaway R.W., Hildebrand R.P., Clarke B.J. (1975). Trace volatile constituents of beer. *Hop seed oil. J. Inst. Brew.*, 81(4), 314-317
14. Kochman K. (2012). Kluczowa rola kwasów tłuszczowych Omega-3 i Omega-6 w biologii człowieka. *Postępy Biologii Komórki*, 39(2), 189-198
15. Kiralan M., Gól V., Kara S.M. (2010). Fatty acid composition of hempseed oils from different locations in Turkey. *Span. J Agric. Res.*, 8(2), 385-390
16. Kołota A., Oczkowski M., Gromadzka-Ostrowska J. (2014). Wpływ występujących w piwie związków polifenolowych na organizm – przegląd literatury. *Alkoholizm i Narkomania*, 27, 273-281
17. Kumider J. (1996). *Utylizacja odpadów przemysłu rolno-spożywczego. Aspekty towaroznawcze i ekologiczne.* Poznań
18. Mastanjević K., Mastanjević K., Krstanović V. (2017). The gushing experience - A quick overview. *Beverages*, 3(2), 25; doi:10.3390/beverages3020025
19. Mikyška A., Jurková M. (2019). Varietal specificity of polyphenols, free phenolics and antioxidant potential in hops. *Kvasny Prum.*, 65, 178-185
20. Mikyška A., Krofta K. (2012). Assessment of changes in hop resins and polyphenols during long-term storage. *J. Inst. Brew.*, 118(3), 269-279
21. Nawirska A., Sokół-Łętowska A., Kucharska A. (2007). Właściwości przeciwutleniające wyłoków z wybranych owoców kolorowych. *Żywn. Nauka Technol. Jakość*, 4(53), 120-125
22. Niwińska B., Szymczyk B., Szczurek W. (2019). Perspektywy krajowej produkcji pasz dla zwierząt gospodarskich oraz żywności pochodzenia zwierzęcego bez GMO. *Wiad. Zoot.*, R. LVII, 4, 107-120
23. Nowak A., Zielonka J., Turek M., Klimowicz A. (2014). Wpływ przeciwutleniaczy zawartych w owocach na proces fotostarzenia się skóry. *Post. Fitoter.*, 15(2), 94-99
24. Pal J., Piotrowska A., Adamiak J., Czerwińska-Ledwig O. (2019). Piwo i surowce browarnicze w kosmetologii oraz kąpiele piwne jako forma zabiegowa. *Post. Fitoter.*, 20(2), 145-153
25. Polska Norma PN-EN ISO 3961. Oleje i tłuszcze roślinne oraz zwierzęce – Oznaczanie liczby jodowej

26. Polska Norma PN-EN ISO 660. Oleje i tłuszcze roślinne oraz zwierzęce – Oznaczenie liczby kwasowej i kwasowości
27. Polska Norma PN-EN ISO 6320. Oleje i tłuszcze roślinne oraz zwierzęce – Oznaczenie współczynnika załamania światła
28. Polska Norma PN-EN ISO 659. Nasiona oleiste – Oznaczenie zawartości oleju
29. Skwarek M., Dolatowski Z.J. (2013). Jakość ekologicznych olejów tłoczonych na zimno. *Nauka Przyr. Tech.*, 7(3), 37, 1-13
30. Szczepaniak O., Dziedziński M., Kobus-Cisowska J., Szulc P., Szymanowska D., Sudyka M., Goryńska-Goldmann E. (2019). Chmiel (*Humulus lupulus* L.) jako surowiec o właściwościach prozdrowotnych: aktualny stan wiedzy. *Tech. Rol. Ogrod. Leśna*, 3, 9-12
31. Trojnar K. (2020). Rynek chmielu w Polsce. *Wiedza i Jakość*, 2, 13-15
32. Zadernowski R., Nowak-Polakowska H., Pieńkowska H. (2002). Wpływ sposobu wydobywania tłuszczu z nasion wiesiołka i ogórecznika na wybrane cechy fizykochemiczne oraz stabilność olejów. *Rośliny Oleiste*, 23, 471-480
33. Zielińska A., Nowak I. (2014). Kwasy tłuszczowe w olejach roślinnych i ich znaczenie w kosmetyce. *Chemik*, 68(2), 103-110

METODY UTRWALANIA I DŁUGOTERMINOWEGO PRZECHOWYWANIA GRZYBÓW STRZĘPKOWYCH W KOLEKCJACH KULTUR

Barbara Sokółowska, Monika Kowalczyk

Instytut Biotechnologii Przemysłu Rolno-Spożywczego im. prof. Wacława Dąbrowskiego
Państwowy Instytut Badawczy
Zakład Mikrobiologii
ul. Rakowiecka 36, 02-532 Warszawa

barbara.sokolowska@ibprs.pl

Streszczenie

Zadaniem Kolekcji kultur jest gromadzenie i przechowywanie mikroorganizmów w celu ochrony bioróżnorodności zasobów biologicznych. Kolekcje stanowią repozytoria szczepów do badań naukowych, dydaktyki, zastosowań przemysłowych oraz depozytów patentowych.

W artykule przedstawiono metody utrwalania i przechowywania grzybów strzępkowych w kolekcjach kultur i laboratoriach badawczych. Omówiono przykłady zastosowania dwóch podstawowych technik utrwalania, jakimi są zamrażanie w ciekłym azocie i liofilizacja oraz innych specyficznych metod utrwalania grzybów strzępkowych.

Słowa kluczowe: grzyby strzępkowe, metody przechowywania, zamrażanie, liofilizacja, krioprotektanty

METHODS FOR PRESERVATION AND LONG-TERM STORAGE OF FILAMENTOUS FUNGI IN CULTURE COLLECTION

Summary

Culture collections are designed to collect and store microorganisms in order to protect the biodiversity of biological resources. They act as repositories under patent deposits, key microbes in industry, and essential for research and teaching.

The article presents methods of preservation and storage of filamentous fungi in culture collections and research laboratories. Examples of the use of two basic preservation techniques, i.e. freezing in liquid nitrogen and freeze-drying, as well as other specific methods of preserving filamentous fungi are discussed.

WPROWADZENIE

Szczepy wielu gatunków grzybów strzępkowych są wykorzystywane w biotechnologii do wytwarzania różnego rodzaju związków organicznych. Wykorzystuje się je na skalę przemysłową w produkcji m.in.: antybiotyków, enzymów, kwasów organicznych, hormonów wzrostu roślin, chityny, chitozanu oraz kwasu γ -linoleinowego. Niektóre gatunki grzybów strzępkowych wykorzystuje się w technologii żywności do produkcji serów z porostem i przerostem pleśniowym oraz żywności orientalnej. Znajdują one także zastosowanie w bioremediacji gleby, oczyszczaniu ścieków oraz jako biologiczne środki ochrony roślin [Grzegorzczak i in. 2015; Nowak i in. 2013; Żakowska, Piotrowska 2020].

W celu zapewnienia stabilnego materiału biologicznego do prowadzenia procesów produkcyjnych niezbędne jest przechowywanie stosowanych szczepów. Utrwalanie i przechowywanie kultur grzybów ma także znaczenie dla badań nad ich systematyką, bioróżnorodnością, genomiką i proteomiką. Prowadzone jest również w celach edukacyjnych. Gromadzone w kolekcjach informacje mogą być nieocenionym źródłem wiedzy dla ich przyszłych zastosowań.

W kolekcjach kultur do przechowywania grzybów strzępkowych powszechnie stosowane są dwie metody: zamrażanie i liofilizacja [ATTC 2020, ATCC 2021, Ryan, Smith 2007, Tan i in. 2007]. Jednakże ze względu na ich zróżnicowanie i specyficzne wymagania są stosowane także inne metody przechowywania.

ZAMRAŻANIE (krioprezerwacja)

Grzyby strzępkowe zarówno zdolne do tworzenia zarodników, jak i niezarodnikujące można przechowywać w stanie zamrożonym. W laboratoriach naukowych i kolekcjach popularne jest przechowywanie kultur w zamrażarkach zapewniających temperaturę -80°C , jednakże do długotrwałego przechowywania (a za taki uznaje się okres powyżej 5 lat) właściwa jest temperatura ciekłego azotu -196°C lub jego par wynosząca pomiędzy -135°C a -150°C , ponieważ w tej temperaturze nie zachodzą praktycznie żadne mutacje materiału genetycznego [ATTC 2020; ATCC 2021, Prakash i in. 2013, Akimowicz, Sokołowska 2021].

Przykładem grzybów strzępkowych, których zarodniki zachowują bardzo dobrą żywotność w stanie zamrożonym są gatunki z rodzaju *Fusarium*. Webb i in. (2018) przechowywali przez 5 lat zarodniki 374 szczepów *Fusarium* spp., stosując jako krioprotektanty odtłuszczone mleko i glicerol (mleko w stężeniu 3,5%, a glicerol w stężeniu 25%) w temperaturze -80°C i równolegle w -165°C . Zarodniki wszystkich szczepów

Fusarium spp. przechowywanych przez 5 lat w temperaturze -165°C zachowały zdolność kiełkowania i tworzenia grzybni. Ponadto po ożywieniu szczepy te rosły dwa razy szybciej niż szczepy przechowywane przez ten sam okres czasu w temperaturze -80°C . Przeżywalność zarodników większości badanych szczepów (~66%) przechowywanych w parach ciekłego azotu wynosiła od 80 do 100%, natomiast ~16% badanych szczepów wykazywało przeżywalność poniżej 50% początkowej liczby zarodników. Przeżywalność zarodników przechowywanych w -80°C była niższa a 2,3% spośród nich nie udało się ożywić [Webb i in. 2018].

Również badania Yalcin-Duygu i in. (2018), którzy ocenili przeżywalności zarodników *Aspergillus niger* i *Penicillium* sp. po trzech i sześciu miesiącach przechowywania w temperaturze -80°C w obecności 15,0% glicerolu i 10,0% odtłuszczonego mleka wskazują, że temperatura -80°C nie powinna być stosowana do długotrwałego przechowywania grzybów strzępkowych. Bowiem przeżywalność zarodników w tych badaniach nie przekraczała kilku procent. Należy także podkreślić, że 10,0% odtłuszczone mleko wykazywało lepsze działanie ochronne w warunkach tego doświadczenia.

Natomiast badania Tan i Mustapha (2014) wykazały, że przeżywalność zarodników grzybów strzępkowych należących do gatunków *Rhizopus oligosporous*, *Amylomyces rouxii*, *Aspergillus oryzae* oraz *Monascus purpureus* po sześciu miesiącach przechowywania z dodatkiem 15,0 % glicerolu w temperaturze -80°C i -196°C była taka sama i wynosiła 100,0%.

W stanie zamrożonym mogą być również przechowywane strzępki grzybni. Badania Morris i in. (1988) wykazały, że strzępki grzybów z klas *Ascomycetes* (*Sordaria fimicola*), *Deuteromycetes* (*Alternaria alternata*, *Aschersonia allelyrodis*, *Aureobasidium* sp., *Penicillium expansum*, *Trichoderma reesii*, *Trichophyton rubrum*, *Wallemia sebi*) oraz *Zygomycetes* (*Mucor racemosus*) przeżywały zamrażanie w ciekłym azocie (-196°C) zarówno zawieszone w 10,0 % glicerolu, jak i w pożywce. Uzyskano przeżywalność na poziomie od 70,0% do 100,0 %, przy czym, w glicerolu przeżywalność była z reguły wyższa [Morris i in. 1988].

LIOFILIZACJA (suszenie sublimacyjne)

Liofilizacja jest procesem polegającym na usunięciu wody z uprzednio zamrożonych substancji. Technika ta pozwala na przygotowanie wysuszonego preparatu mikroorganizmów, który może zostać łatwo ożywiony przez nawodnienie. Proces liofilizacji jest złożony

i przebiega w kilku etapach: zamrażanie, suszenie pierwotne i suszenie wtórne. Do zamrażania preparatów stosuje się zwykle ciekły azot lub mieszaniny chłodzące (np. suchy lód z etanolem). Suszenie odbywa się w warunkach próżniowych. Gdy ciśnienie zostaje zmniejszone, a temperatura wzrośnie, rozpoczyna się sublimacja kryształów lodu utworzonych w komórce podczas zamrażania, tj. bezpośrednie przejście lodu w stan gazowy. Końcowa zawartość wody w wysuszonym preparacie wynosi $2 \div 6\%$ [Kamboj i in. 2013].

Procesowi liofilizacji poddaje się głównie zarodniki grzybów strzępkowych, jednakże podejmowane są próby utrwalania ich biomasy.

Toegel i in. [2010] oszacowali wpływ etapów procesu liofilizacji na przeżywalność zarodników *Beauveria brongniartii* oraz *Metarhizium anisopliae*, stosowanych w biologicznej ochronie roślin. Zamrożenie (w temperaturze -80°C , 24 h) zarodników bez obecności krioprotektanta spowodowało utratę żywotności o $\sim 58\%$ w przypadku *Beauveria brongniartii* i o $\sim 17\%$ w przypadku *Metarhizium anisopliae*. Dodatek krioprotektantów - fruktozy, rybozy, sacharozy, rafinozy, sorbitolu, glutaminianu i mleka, spowodował, że utrata żywotności *Beauveria brongniartii* w procesie zamrażania wynosiła tylko kilka procent. Dodatek glukozy, maltozy, sacharozy, rafinozy, sorbitolu czy cysteiny w sposób istotny ochronił zarodniki *Metarhizium anisopliae* w procesie zamrażania. Po całym procesie liofilizacji (obejmującym etap zamrożenia i suszenia) bez dodatku krioprotektanta, żywotność zarodników obniżyła się o 65% dla *Beauveria brongniartii* oraz o 96% dla *Metarhizium anisopliae*. Fruktaza, glukoza i sacharoza znacząco zwiększyły żywotność *Beauveria brongniartii* oraz *Metarhizium anisopliae* podczas procesu liofilizacji i ożywiania liofilizatu [Toegel i in. 2010].

Badania Tan i Mustapha [2014], wykazały, że przeżywalność grzybów strzępkowych z gatunków *Rhizopus oligosporous*, *Amylomyces rouxii*, *Aspergillus oryzae* oraz *Monascus purpureus* wynosiła 100,0% po 6 miesiącach przechowywania zliofilizowanych szczepów w mieszance odtłuszczonego mleka, glutaminianu sodu i poliwinylpirolidonu (K-90).

Grzegorzyc i in. [2018] oszacowali przeżywalność i stabilność liofilizatów 7 szczepów z rodzaju *Trichoderma* z hodowli na słomie pszenicznej. Hodowle te, zawierające mieszaninę słomy, grzybni i konidiów, liofilizowano z dodatkiem maltodekstryny (końcowe stężenie 10,0%) jako krioprotektanta, bądź z dodatkiem jedynie sterylnej wody destylowanej, czyli bez krioprotektanta. Przeżywalność czterech z siedmiu szczepów bezpośrednio po procesie liofilizacji bez dodatku krioprotektanta, sięgała 100%, podczas gdy przeżywalność w próbkach z dodatkiem maltodekstryny wynosiła od 78,0 do 97,0%. Bezpośrednio po liofilizacji najniższą przeżywalność, która wynosiła 5,9% w próbkach bez dodatku krioprotektanta i 3,4% przy dodatku maltodekstryny, stwierdzono dla jednego ze szczepów

Trichoderma virens. Po trzech miesiącach przechowywania liofilizatów, stwierdzono wyższą przeżywalność trzech szczepów *Trichoderma* w próbkach, w których stosowano maltodekstrynę jako krioprotektant - wynosiła ona od 30,0% do 95,2%. Natomiast dla czterech szczepów przeżywalność nie różniła się istotnie bez względu na obecność krioprotektanta lub jego brak, jednak była bardzo niska i kształtowała się na poziomie od 0,019% do 9,85%. Wszystkie szczepy *Trichoderma*, niezależnie czy w procesie liofilizacji zastosowano krioprotektant czy nie, po trzech miesiącach przechowywania zachowały aktywność celulazy i ksylanazy. Natomiast aktywność poligalakturonazy uległa istotnemu obniżeniu dla 4 spośród 7 badanych szczepów [Grzegorzczak i in. 2018].

INNE METODY

Niektóre gatunki grzybów wymagają specyficznych metod i warunków przechowywania. Technika *oil overlay* polega na pokryciu kultur grzybowych wyhodowanych na skosach agarowych olejem mineralnym lub płynną parafiną. Metodę tę stosuje się w przypadku grzybów strzępkowych, niezarodnikujących, które źle znoszą zamrażanie czy liofilizację. Jest tanią i łatwą techniką przechowywania kultur grzybowych np. z rodzajów *Phytium* czy *Phytophthora*. Takie kultury mogą być przechowywane przez kilka lat, a w wyjątkowych przypadkach nawet powyżej 30 lat, w temperaturze pokojowej lub w temperaturze 10 - 20°C. Wadą metody jest to, że grzyby podczas przechowywania w dalszym ciągu rosną, tak więc mogą pojawiać się mutanty mające zdolność do wzrostu w niesprzyjających warunkach [Nakasone i in. 2004]. Odmianą tej techniki, zapewniającą wielomiesięczną przeżywalność, jest pokrycie kultur grzybowych na skosach agarowych glicerolem i przechowywanie w 4°C [Paul i in. 2015] lub w -20°C [Saxena, Gupta 2019]. Metodę tę stosowano do szczepów z rodzajów *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Trichoderma*, *Cladosporium* oraz *Rhizopus*.

Inną prostą metodą przechowywania kultur grzybów jest stosowana od lat siedemdziesiątych XX wieku metoda Castellani. Polega ona na pokryciu warstwą wody kultur rosnących na skosach lub alternatywnie kawałki grzybni pobrane wraz z pożywką mogą być umieszczane w probówkach z wodą. Kultury są przechowywane w 4°C. Woda hamuje zmiany w morfologii większości grzybów. W przypadku grzybów zarodnikujących można zastosować wodę destylowaną w celu splukania zarodników z pożywki. Zawiesinę zarodników w wodzie przechowuje się w temperaturze pokojowej [Nakasone i in. 2004]. Hartung de Capriles i in. [1989] po sprawdzeniu przeżywalności 594 szczepów ze 116 gatunków grzybów przechowywanych w kolekcji Instytutu Medycyny Tropikalnej w Caracas,

metodą Castellani przez okres od roku do 20 lat, stwierdziły, że ponad 90 % szczepów pozostało żywych, a 62% zachowało niezmiennione cechy morfologiczne.

Grzyby z rodzajów *Sclerotinia*, *Magnaporthe*, *Leptosphaeria* i *Rhizoctonia* mogą być przechowywane na ziarnach zbóż (owsa, pszenicy, jęczmienia żyta, prosa czy sorgo) nawet przez dziesięć lat. Ziarna zbóż moczy się przez całą noc w wodzie zawierającej chloramfenikol (w celu inaktywacji rodzimej mikroflory), po tym czasie woda jest usuwana, a ziarna są autoklawowane. Fiolki wypełnia się ziarnami i dodaje kultury grzybowe. Tak przygotowane próbki inkubuje się w temperaturze 23 - 27°C przez 7 - 10 dni. Następnie kultury są dokładnie suszone w eksykatorze w temperaturze pokojowej i po uszczelnieniu fiolki są przechowywane w temperaturze -25°C [Nakasone i in. 2004].

Metoda z żelem krzemionkowym (metoda Perkins) została pierwotnie opracowana do przechowywania gatunków z rodzaju *Neurospora* i pozwalała na zachowanie żywotności zarodników tych grzybów przez okres 4 - 5 lat. Zaletą tej techniki jest to, że żel krzemionkowy zapobiega wzrostowi i metabolizmowi grzybów [Nakasone i in. 2004]. Metoda ta z powodzeniem była stosowana do przechowywania 22 gatunków grzybów przez okres 4 lat [Trollope 1975]. Zamiast żelu krzemionkowego stosowane są również szklane kulki.

Niektóre gatunki grzybów mogą być z powodzeniem przechowywane przez wiele lat w sterylnym piasku lub glebie. Metodę tę stosowano do przechowywania grzybów *Rhizoctonia*, *Septoria* i *Pseudocercospora*. Niewielka ilość zawiesiny grzybni w wodzie jest dodawana do sterylnego piasku lub gliniastej gleby w szklanych buteleczkach. Po 2 - 14 dniach inkubacji w temperaturze pokojowej preparaty przechowywane są w 4°C [Nakasone i in. 2004].

Wytwory grzybni takie jak sklerocja, propagule czy sferule mogą być przechowywane bez żadnych dodatków przez kilka lat w warunkach chłodniczych. Sklerota grzybów glebowych *Phymatotrichum*, *Magnaporthe* oraz *Cylindrocladium* pozostały żywe po 2 - 5 latach przechowywania w temperaturze 3 - 5°C [Nakasone i in. 2004].

PODSUMOWANIE

Dobór metody długoterminowego przechowywania grzybów strzępkowych zależy głównie od ich zdolności do tworzenia spor. Szczepy zarodnikujące i niezarodnikujące można przechowywać w ciekłym azocie lub w parach ciekłego azotu. Szczepy wytwarzające zarodniki najczęściej poddaje się procesowi liofilizacji. W przypadku grzybów strzępkowych,

niezarodnikujących lub tych, które źle znoszą zamrażanie czy liofilizację stosowane są inne proste i tanie metody przechowywania, takie jak przechowywanie kultur na skosach agarowych pod warstwą oleju mineralnego, parafiny lub glicerolu, przechowywanie na ziarnach zbóż, w żelu krzemionkowym lub piasku.

PIŚMIENNICTWO

1. Akimowicz M., Sokołowska B. (2021) Zamrażanie i liofilizacja jako techniki utrwalania i przechowywania mikroorganizmów. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 28, 1 (126), 28 – 38
2. ATCC (2020). Preservation and recovery of filamentous fungi. [on line]. Tech Bulletin. Dostęp w Internecie [16.010.2021]: <https://www.atcc.org>
3. ATCC (2021). Mycology Culture Guide. [on line]. Dostęp w Internecie [16.10.2021]: <https://www.atcc.org>
4. Grzegorzczak M., Szalewicz A., Żarowska B., Połomska X., Wątopek W., Wojtatowicz M. (2015). Drobnoustroje w biologicznej ochronie roślin przed chorobami grzybowymi. *Acta Sci. Pol. Biotechnol.*, 14 (2), 19-42
5. Grzegorzczak M., Kancelista A., Łaba W., Piegza M., Witkowska D. (2018). The effect of lyophilization and storage time on the survival rate and hydrolytic activity of *Trichoderma* strains. *Folia Microbiol.*, 63 (4), 433-441
6. Hartung de Capriles C., Mata S., Middelveen M. (1989). Preservation of fungi in water (Castellani): 20 years. *Mycopathologia*, 106 (2), 73-79
7. Kamboj N., Maurya S., Kamboj S., Singh G.K.: Lyophilisation process – an overview. [on line]. PharmaTutor, 2013. Dostęp w Internecie <https://www.pharmatutor.org/articles/lyophilization-process-overview>
8. Morris G.J., Smith D., Coulson G.E. (1988). A comparative study of the changes in the morphology of hyphae during freezing and viability upon thawing for twenty species of fungi. *J Gen Microbiol.*, 134 (11), 2897-2906
9. Nakasone K.K., Peterson S.W., Jong S.C. (2004). Preservation and distribution of fungal cultures. W: Biodiversity of fungi: inventory and monitoring methods. Red. Mueller G.M., Billis G.F., Foster M.S., Elsevier Academic Press, Amsterdam, 37-47
10. Nowak J., Górna B., Nowak W. (2013). Wykorzystanie grzybów strzępkowych do biodegradacji ścieków z przemysłu ziemniaczanego z jednoczesną produkcją biomasy pleśniowej na cele paszowe. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*. 6 (91), 191-203

11. Paul J.S., Tiwari K.L., Jadhav S.K. (2015). Long Term Preservation of commercial Important Fungi in Glycerol at 4°C. *Int. J. Biol. Chem.*, 9, 79–85
12. Prakash O., Nimonkar Y., Shouche Y.S. (2013). Practice and prospects of microbial preservation. *FEMS Microbiol Lett.*, 339(1), 1-9
13. Ryan M.J., Smith D. (2007). Cryopreservation and Freeze-Drying of Fungi Employing Centrifugal and Shelf Freeze-Drying. W: *Methods in Molecular Biology. Cryopreservation and Freeze-Drying Protocols*. Red. Day J.G., Stacey G.N. Second Edition, vol. 368, © Humana Press Inc., Totowa, New Jersey. 127-140
14. Saxena A., Gupta S. (2019). Experimental comparison: Methods for the preservation of fungal cultures. *Curr. Res. Environ. Appl. Mycol. (Journal of Fungal Biology)* 9 (1), 208-212
15. Tan C.S-h., van Ingen C.W., Stalpers J.A. (2007). Freeze-Drying Fungi Using a Shelf-Freeze Drier. W: *Methods in Molecular Biology. Cryopreservation and Freeze-Drying Protocols*. Red. Day J.G., Stacey G.N. Second Edition, vol. 368, © Humana Press Inc., Totowa, New Jersey 2007, 119-126.
16. Tan G.H., Mustapha N. (2014). A comparative analysis of preservation of functional food cultures by freeze-drying, liquid-drying and freezing methods. *Direct Research Journal of Agriculture and Food Science*, 2 (2), 13-18
17. Toegel S., Salar-Behzadi S., Horaczek-Clausen A., Viernstein H. (2010). Preservation of aerial conidia and biomasses from entomopathogenic fungi *Beauveria brongniartii* and *Metarhizium anisopliae* during lyophilization. *J Invertebr. Pathol.* 105 (1), 16-23
18. Trollope D.R. (1975). The Preservation of Bacteria and Fungi on anhydrous Silica Gel: an Assessment of Survival over Four years. *J. Appl. Bacteriol.*, 38 (2), 115-120
19. Webb K.M., Holman G., Duke S., Greene S., McCluskey K. (2018). Frozen fungi: cryogenic storage is an effective method to store *Fusarium* cultures for the long-term. *Ann. Appl. Biol.*, 173, 133-140.
20. Yalcin-Duygu D., Erdem B., Ozer T., Acikgoz-Erkaya I. (2018). Long-term storage of a number of microorganism species using different cryoprotectants. *Fresenius Environ. Bull.*, 27 (6), 4318-4324
21. Żakowska Z., Piotrowska M. (2020). Grzyby strzępkowe. W: *Mikrobiologia techniczna. Mikroorganizmy w biotechnologii, ochronie środowiska i produkcji żywności*. Red. Z. Libudzisz, K. Kowal, Z. Żakowska. Tom 2. Wyd. Nauk. PWN, 2020, 150-177

Informacje dla autorów

„Postępy Nauki i Technologii Przemysłu Rolno-Spożywczego” są wydawnictwem ciągłym (kwartalnikiem) publikowanym przez Instytut Biotechnologii Przemysłu Rolno-Spożywczego im. prof. Wacława Dąbrowskiego – Państwowy Instytut Badawczy (IBPRS-PIB).

Prace kwalifikowane są do druku na podstawie recenzji. Artykuły powinny być napisane w sposób zwięzły i rzeczowy oraz zgodnie z zasadami pisowni polskiej.

Objętość prac nie powinna przekraczać 15 stron maszynopisu formatu A4. Tekst należy napisać czcionką Times New Roman 12 pkt (tytuł pracy – 14 pkt) z zachowaniem odstępu pomiędzy wierszami 1,5, marginesy 2,5 cm i wcięcia akapitów 0,75 cm i zapisać w formacie Word for Windows 97-2003. Tekst powinien być wyjustowany z numeracją na dole strony. Tabele, rysunki i wykresy należy umieścić w tekście. Tytuły tabel należy umieszczać nad tabelami, a rysunków pod rysunkami. Numeracja powinna odpowiadać chronologii ich pojawiania się w tekście (np. tabela 1, rysunek 1). Skróty jednostek miar i wyniki oznaczeń powinny być zgodne z Międzynarodowym Układem Jednostek SI. Tytuły tabel (nagłówki) i rysunków należy podać w języku polskim i angielskim (*kursywą*). Kursywą należy wyróżnić: symbole i wielkości fizyczne, jedno- i wieloliterowe skróty wyrazów w indeksach oraz nazwy łacińskie.

W treści cytowane powinny być tylko dokumenty publikowane np.

- [Kowalski 2002]
- [Kowalski, Szewczyk 2003]
- [Kowalski 2002; Szewczyk 2000; Słowik 1999]
- [Kowalski i in. 2004] – jeżeli jest więcej niż dwóch autorów

Nie powinno się jednorazowo cytować więcej niż pięć pozycji literatury.

Układ pracy (wszystkie tytuły wypośrodkowane i wytłuszczone)

TYTUŁ PRACY (14 pkt)

Autorzy (**Imię i Nazwisko**) 12 pkt

Miejsce pracy (nazwa instytucji, adres, e-mail pierwszego autora)

Streszczenie (do 20 wierszy)

Słowa kluczowe (do 6 słów)

TYTUŁ PRACY W J. ANGIELSKIM 12 pkt

Streszczenie w j. angielskim (**Summary**)

Słowa kluczowe w j. angielskim (**Key words**)

WPROWADZENIE lub **WSTĘP**

Tekst uwzględniający podział na ułatwiające lekturę rozdziały i podrozdziały oraz ilustracje graficzne i tabelaryczne.

PIŚMIENNICTWO (spis ułożony alfabetycznie, numerowany) tylko dokumenty publikowane

W przypadku prac doświadczalnych układ powinien zawierać dodatkowo:

MATERIAŁ I METODY BADAŃ

WYNIKI I DYSKUSJA (wyniki z badań w syntetycznym zestawieniu)

WNIOSKI

Przykłady:

- artykuł z czasopisma
Funk P. (2004). Soki owocowe. *Przem. Ferm. Owoc.-Warz.*, 48, 8-9
- wydawnictwa zwarte
Ball S. (2001). *Antyoksydanty w medycynie i zdrowiu człowieka*. Warszawa: Medyk Sp. z o.o.
Żywność wygodna i żywność funkcjonalna. (1999). Pr. zbior. pod red. F. Świderskiego. Warszawa: WNT
- rozdział w książce
Brusiło J. (2008). *Żywność modyfikowana genetycznie – Ocena etyczna globalnego eksperymentu*. W: *Zrównoważone rolnictwo a bezpieczna żywność*. Kraków: PTTŻ
- czasopismo elektroniczne
Komorowska A., Sieliwanowicz B., Mrówka E., Stecka K., Hałasińska A. (2003). *Studies on yeast extracts enriched in 5' nucleotides flavour enhancers obtained from spent brewery yeast*. *Electr. J. Pol. Agricult. Univ., Biotechnol.*, 6, 1. <http://www.ejpan.media.pl/series/volume6/issue1/biotechnology/index.html>
- materiały z konferencji
Górniak W. (2003). *Grupy jakościowe ziarna pszenicy a kierunki jego wykorzystania*. W: *Ogólnopolska Konferencja Naukowa – Jakość a wykorzystanie ziarna zbóż*. 15–16 października 2003. Puławy: JUNG [CD-ROM]

Redakcja zastrzega sobie prawo do dokonywania w tekście poprawek redakcyjnych niewpływających na treść merytoryczną artykułu bez porozumienia z Autorami.

Artykuł należy przesłać e-mailem na adres Sekretarza Redakcji i jeden egzemplarz wydrukowany.

Redakcja

Instytut Biotechnologii Przemysłu Rolno-Spożywczego im. prof. Wacława
Dąbrowskiego – Państwowy Instytut Badawczy

ul. Rakowiecka 36,

02-532 Warszawa

Sekretarz – Lila Nabiałek, tel. 22 606 36 99, e-mail: lila.nabialek@ibprs.pl