

POSTĘPY NAUKI I TECHNOLOGII PRZEMYSŁU ROLNO-SPOŻYWCZEGO

t. 76 nr 3-4

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. Marek Roszko, prof. IBPRS-PIB

Z-ca Redaktora Naczelnego – dr hab. inż. Marcin Bryła, prof. IBPRS-PIB

Redaktorzy tematyczni: *dr Beata Bartodziejska, dr inż. Katarzyna Kotarska, dr hab. inż. Dariusz Lisiak, prof. IBPRS-PIB, dr inż. Katarzyna Piasecka-Jóźwiak, dr hab. inż. Stanisław Ptasznik, prof. IBPRS-PIB, dr inż. Sylwia Skąpska, dr hab. inż. Barbara Sokołowska, prof. IBPRS-PIB, dr inż. Anna Szafrńska, dr inż. Elżbieta Wojtowicz*

Native speaker: Christopher Whyatt, Senior Lecturer (TEFL) at the Adam Mickiewicz University, Poznań

Recenzenci

prof. dr hab. Danuta Barańkiewicz
dr hab. inż. Krzysztof Bieńczyk, prof. PP
dr inż. Anna Bogacka
dr hab. inż. Piotr Burmistrz, prof. AGH
dr hab. Anna Bzducha-Wróbel, prof. SGGW
dr inż. Agata Czyżowska
dr hab. inż. Iwona Gientka, prof. SGGW
dr inż. Katarzyna Gościńska
dr inż. Anna Grygier
dr inż. Dorota Klensporf-Pawlik
dr hab. Monika Kordowska-Wiater, prof. UP
prof. dr hab. inż. Hanna Kowalska
dr hab. inż. Beata Mikołajczak

dr hab. Anna Milczarek, prof. UPH
dr hab. Halina Polkowska-Motrenko
dr inż. Dominik Popowski
prof. dr hab. inż. Renata Różyło
dr hab. Adam Sajnog
dr inż. Anna Sieczko
prof. dr hab. Krystyna A. Skibniewska
dr inż. Janina Szewczyk
dr inż. Barbara Szymczak
dr hab. inż. Hanna Śmigielska, prof. UEP
dr inż. Rafał Tarakowski
dr inż. Dariusz Tefelski
dr hab. inż. Anna Zadernowska, prof. UWM

Sekretarz Redakcji

mgr Lila Nabiałek

Instytut Biotechnologii Przemysłu Rolno-Spożywczego im. prof. Wacława 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. Wacława Dąbrowskiego
Państwowego Instytutu Badawczego
ISSN 2083-5809
Projekt graficzny okładki – INNOVA
nakład 80 egz.

SPIS TREŚCI

Zastosowanie wysokiego ciśnienia hydrostatycznego z kurkuminą i niziną do przedłużenia trwałości mikrobiologicznej mięsa z piersi kurczaka Kiełek E., Porębska I., Sokołowska B., Wojtczak A.	5
Ocena przydatności wybranych pożywek mikrobiologicznych do oznaczania liczby bakterii fermentacji mlekowej w piwie Waldon-Wiewióra E., Sokołowska B., Niezgoda J.	21
Przegląd mechanizmów molekularnych wykorzystywanych w odpowiedzi na stres przez bakterie kwasu mlekowego Bucka-Kolendo J., Sokołowska B.	32
Wartość wypiekowa mąki żytniej typ 1400 wyprodukowanej w krajowych młynach przemysłowych Stępniewska S.	55
Wpływ czynników geograficznych na strukturę agrarną i strukturę ras zwierząt rzeźnych w regionach górskich i podgórskich w Polsce Borzuta K., Lisiak D., Janiszewski P., Grześkowiak E.	73
Informacje dla autorów	88

CONTENTS

Application of high hydrostatic pressure with curcumin and nisin to improve the microbiological quality of chicken breast meat Kiełek E., Porębska I., Sokołowska B., Wojtczak A.	5
The assessment of the suitability of selected media to enumeration of lactic acid bacteria in beer Waldon-Wiewióra E., Sokołowska B., Niezgoda J.	21
An overview of the molecular mechanisms leveraged in the lactic acid bacteria stress response Bucka-Kolendo J., Sokołowska B.	32
Baking value of rye flour type 1400 from the domestic industrial mills Stępniewska S.	55
The influence of geographical factors on the agrarian structure and the structure of slaughter animal breeds in mountain and foothill regions in Poland Borzuta K., Lisiak D., Janiszewski P., Grześkowiak E.	73

APPLICATION OF HIGH HYDROSTATIC PRESSURE WITH CURCUMIN AND NISIN TO IMPROVE THE MICROBIOLOGICAL QUALITY OF CHICKEN BREAST MEAT

Ewelina Kielek, Izabela Porębska, Barbara Sokołowska, Adrian Wojtczak

Prof. Waław Dąbrowski Institute of Agricultural and Food Biotechnology
State Research Institute
36 Rakowiecka Str., 02-532 Warsaw, Poland

ewelina.kielek@ibprs.pl

Received: 27 April 2023

Revised: 31 July 2023

Accepted: 8 August 2023

Summary

The use of high hydrostatic pressure (HHP) technology can be an alternative method to extend the shelf life of food products and raw materials. The addition of natural compounds such as curcumin and nisin can significantly enhance the effects of HHP treatment. The objective of the study was to evaluate the effect of these compounds on the microbiological stability of chicken meat treated with HHP at 600 MPa for 5 minutes and stored under refrigeration conditions for 3 additional weeks. The study indicates that high hydrostatic pressure significantly inhibited microbial growth in poultry meat, compared to the control sample not subjected to its effects. During the first day of testing, HHP completely halted the growth of mesophilic bacteria, psychrophilic bacteria, *Pseudomonas*, *Brochothrix* spp., *Staphylococcus*, yeast and mold. For *Enterobacteriaceae* and LAB, inhibition was observed up to 7 days of storage. Furthermore, the tested samples had lower counts of these microorganisms on the remaining days of testing compared to raw meat. Additionally, the addition of 1% and 2% curcumin and nisin solutions to HHP-treated samples allowed for increased inactivation of microorganisms, acting as an additional inhibitory factor. However, high hydrostatic pressure caused a lightening of the meat color, increased drip loss and a more compact meat structure. The study confirms that the use of HHP technology extended the shelf life of chicken meat (both microbiologically and sensory) up to 14 days of storage.

Keywords: chicken breast meat, curcumin, high hydrostatic pressure, nisin, poultry meat

ZASTOSOWANIE WYSOKIEGO CIŚNIENIA HYDROSTATYCZNEGO Z KURKUMINĄ I NIZYNĄ DO PRZEDŁUŻENIA TRWAŁOŚCI MIKROBIOLOGICZNEJ MIĘSA Z PIERSI KURCZAKA

Streszczenie

Zastosowanie technologii wysokiego ciśnienia hydrostatycznego (HHP) może być alternatywną metodą przedłużania trwałości surowców i produktów spożywczych. Dodatek naturalnych związków, takich jak kurkumina i nizyna, może w istotny sposób wzmocnić efekty działania HHP. Celem pracy było określenie wpływu tych związków na stabilność mikrobiologiczną mięsa drobiowego, które było poddawane działaniu wysokiego ciśnienia hydrostatycznego w wysokości 600 MPa przez 5 minut i przechowywanego w warunkach chłodniczych przez kolejne 3 tygodnie. W pracy przeprowadzono oznaczenie liczebności mikroorganizmów metodami hodowlanymi oraz analizę sensoryczną badanego mięsa. Wykazano, że HHP znacząco zahamowało wzrost drobnoustrojów w mięsie drobiowym w porównaniu do próby kontrolnej nie poddanej jego działaniu. W pierwszej dobie badań HHP całkowicie wstrzymało wzrost bakterii mezofilnych, psychrofilnych, *Pseudomonas*, *Brochothrix* spp., gronkowców oraz drożdży i pleśni, a dla *Enterobacteriaceae* i LAB do 7 dni przechowywania. Co więcej, badane próbki odznaczały się niższą liczebnością oznaczanych mikroorganizmów w pozostałych dniach badań w porównaniu z mięsem surowym. Ponadto, dodatek roztworów 1 i 2% kurkuminy oraz nizyny do próbek traktowanych HHP pozwolił na zwiększoną inaktywację drobnoustrojów stanowiąc dodatkowy czynnik hamujący wzrost drobnoustrojów. Jednakże wysokie ciśnienie hydrostatyczne spowodowało rozjaśnienie barwy mięsa, zwiększyło ilość wycieku przechowalniczego, a struktura mięsa stała się bardziej zwięzła. Badania potwierdzają, że zastosowanie technologii HHP wydłużyło okres przydatności do spożycia mięsa drobiowego (zarówno pod względem mikrobiologicznym jak i sensorycznym) do 14 dnia przechowywania.

Słowa kluczowe: wysokie ciśnienie hydrostatyczne, mięso drobiowe, kurkumina, nizyna

INTRODUCTION

Food preservation is one of the most important stages in processing plant and animal raw materials, as well as the products made from them, as they are prone to chemical, physical, and microbiological changes. In addition, consumers are becoming more aware of the quality of products and prefer to choose fresh, minimally processed items. This presents a challenge

for producers to use new, innovative food preservation technologies that maintain the physical and nutritional properties of the products while ensuring their durability and safety for consumers [Hogan *et al.*, 2005]. High hydrostatic pressure (HHP) technology is an alternative food preservation method that does not require high temperatures and meets the requirements of both quality and consumers. This method is relatively young, as it was discovered by Bert H. Hite at the end of the 19th century to extend the shelf life of milk [Bermúdez-Aguirre *et al.*, 2011]. The beginning of the 1990s marked the start of the industrial use of HHP technology, which was used for the production of jams and fruit juices in Japan [Huang *et al.*, 2017]. The interest in high-pressure methods is steadily growing, as evidenced by the significant increase in the number of industrial installations, including in the meat product category, which accounts for 30% of the market share [Bolumar *et al.*, 2020].

Meat is a raw material that is prone to spoilage, making it important for producers to meet microbiological requirements during processing. Additionally, sensory properties are also important [Pietrzak, 2010]. Many studies confirm that HHP can effectively inactivate microorganisms such as lactic acid bacteria, *Enterobacteriaceae*, *Brochothrix* spp., *Pseudomonas* spp., yeast and mold, as well as pathogenic bacteria such as *Salmonella* spp. or *L. monocytogenes* [Argyri *et al.*, 2019; Garriga *et al.*, 2004; Jofre *et al.*, 2009]. The mechanism of HHP involves damaging cell membranes, which increases permeability and ion release. Morphological changes such as increased cell length, condensation of nuclear material, and cell wall shrinkage may also occur [Sehrawat *et al.*, 2020]. Although HHP technology can be an effective method of microbiological stabilization, it can cause negative changes in meat. These changes include alterations in protein structure, lightening of color, lipid oxidation, and increased release of water during storage [Makała, 2019].

One solution to prevent unfavorable sensory changes in meat is to combine high hydrostatic pressure technology with natural food preservation methods using spices and herbs such as turmeric [Priyadarsini, 2014]. There are curcuminoids in turmeric root, among which curcumin is the most valued. Curcumin is a natural antioxidant and has been attributed with health-promoting properties [Lachowicz *et al.*, 2021], as well as bacteriostatic activity against both Gram-positive and Gram-negative bacteria [Zheng *et al.*, 2020]. Another potential solution is the use of bacteriocins, such as nisin. This bacterial antibiotic is commonly used as a food preservative, as it does not lose its antimicrobial properties during food processing [Santos *et al.*, 2018]. Nisin has antibacterial activity against Gram-positive bacteria, but combining it with high pressure could also help limit the growth of Gram-negative bacteria [Punyauppa-path *et al.*, 2015].

The study aimed to investigate the impact of curcumin and nisin on the microbiological stability of chicken meat processed at 600 MPa for 5 minutes using high-pressure technology, and subsequently stored at $5 \pm 1^\circ\text{C}$ for 21 days. Additionally, the study also involved conducting sensory evaluation of the meat.

MATERIAL AND METHODS

The experimental material consisted of breast muscles of broiler fresh chicken purchased from retail trade. The chicken meat was cut and weighted into portions of 100 g and divided into the following groups: a control group, a group after high hydrostatic pressure, a group with the addition of 1% curcumin after HHP, a group with the addition of 2% curcumin after HHP, and a group with the addition of nisin after HHP. Samples were prepared in triplicate and vacuum-packed (Monolith VSML01, vacuum sealer).

Solutions of curcumin from *Curcuma longa* L. (SIGMA-ALDRICH) at concentrations of 1% and 2% were prepared by suspending them in sterile distilled water with 15% addition of DMSO. Chicken meat samples weighing 100 g were immersed in the prepared solutions for 30 minutes and then vacuum-packed [Adamczak *et al.*, 2020]. A solution of nisin from *Lactococcus lactis* (SIGMA-ALDRICH) at a concentration of 100 IU/cm^3 was prepared in 0.02 M HCl. Following 100 g of meat sample was immersed in the prepared solution for 30 minutes and vacuum-packed [Steeg *et al.*, 1999]. Meat samples were stored under refrigeration conditions at a temperature of $5 \pm 1^\circ\text{C}$. Microbial counts were determined on days 0, 1, 7, 14, and 21 of storage, the analysis for coagulase-positive staphylococci was exceptionally performed on day 0 and 21 of the study.

High Hydrostatic Pressure (HHP) application

The samples of chicken meat were subjected to high hydrostatic pressure using the U4000/65 high-pressure chamber (Unipress, Warsaw, Poland). A pressure of 600 MPa was applied continuously for 5 minutes at 23°C . The time required to reach the desired pressure and the decompression time were not included in the pressure application time. A mixture of water and polypropylene glycol (1:1) was used as the medium for the process.

Microbiological analyses

A 10 g sample was taken from each 100 g sample of chicken meat subjected to high hydrostatic pressure and homogenized with 90 cm^3 of physiological peptone water (Biokar Diagnostics) for 1 min in a stomacher (Colworth 400). The prepared suspension was then serially diluted tenfold in the same diluent. Surface or deep inoculations were made from each dilution, depending on the applied method.

The studies included the determination of the total number of mesophilic according to PN-EN ISO 4833-1:2013-12 and psychophilic bacteria [Hilgarth *et al.*, 2018], lactic acid bacteria according to PN-ISO 15214:2002, *Enterobacteriaceae* according to PN-EN ISO 21528-2:2017, *Pseudomonas* spp. [PN-ISO 13720:1999], coagulase-positive *Staphylococci* [PN-EN ISO 6888-2:2001], *Brochothrix* spp. [ISO 13722:2017], yeasts and molds according to PN-ISO 21527-1:2009, as well as the detection of the presence of pathogenic bacteria *Salmonella* spp. according to PN-EN ISO 6579-1:2017-04 and the number of *Listeria monocytogenes* according to PN-EN ISO 11290-2:2017-07.

Petri Dishes with inoculations were incubated under conditions specified in the applied methods, and the grown colonies were counted. The results were calculated according to PN-EN ISO 7218:2008 + A1: 2013-10. The detection limit of the plate methods is 10 CFU/g, which corresponds to a value of 1 log CFU/g for results presented in logarithmic form. Results below the detection limit are presented as <1.0 log CFU/g.

Sensory evaluation

The sensory panel consisted of one person who performed microbiological tests. The evaluation was carried out after opening vacuum-sealed packages before microbiological analysis. Before the evaluation of the samples, one-person pane was trained on the meat attributes and sensory analysis procedures.

Sensory evaluation of the samples of poultry meat included the assessment visual-descriptive of based on Chmiel, Słowiński [2018]: changes in color, odor, and changes on the surface, i.e. changes in texture, slime and drip loss.

Statistical analysis

The statistical analysis was performed using Statistica 14.0 software (TIBCO Software, USA). Normality of distribution was tested using the Shapiro-Wilk test. Equality of variances was tested using the Levene's test and Brown-Forsythe's test. To evaluate the significance of the effects of the studied factors, after determining the significance of interaction, a two-factor analysis of variance (ANOVA) was conducted. After checking assumptions to demonstrate differences between groups, the Tukey's HSD test was applied at a significance level of $\alpha=0.05$.

RESULTS AND DISCUSSION

The effect of high pressure on microbial population

The combination of high-pressure processing with curcumin or nisin showed a synergistic effect on inhibiting bacterial growth. The addition of 1% or 2% curcumin resulted in

a significant reduction in microbial counts compared to the control group, with a higher effect observed for the 2% concentration. The use of nisin also led to a significant decrease in microbial counts, with the highest reduction observed for the combination of high-pressure processing and nisin (Table 1.)

The study by Galarz *et al.* [2016] aimed to predict bacterial growth in raw chicken fillets stored under refrigerated conditions. The authors used literature data to adopt values of 10^6 - 10^7 CFU/g for both mesophilic and psychophilic bacteria as the end of shelf life of chicken meat. The authors observed that under their tested conditions, mesophilic bacteria required 12 days to reach the accepted maximum, while psychophilic bacteria only needed 9 days due to refrigerated temperatures being their optimal growth environment. However, in the present study, the population of both mesophilic and psychophilic bacteria in raw meat reached values up to 10^7 CFU/g already on the 7th day of storage. For meat subjected to pressure treatment, these values were reached only on the 14th day of storage, but the addition of curcumin and nisin extended the acceptable meat quality limit to 21 days of storage, as shown in Table 1.

The effects of reducing bacterial populations were also observed by O'Brien and Marshall [1996] in ground chicken meat after HHP treatment. In their study, high hydrostatic pressure (408 MPa) reduced the number of mesophilic and psychophilic bacteria by more than 3 log compared to raw meat after 7 days of storage at 4°C. Yuste *et al.* [2001b] applied different values of oscillatory hydrostatic pressure to mechanically separated chicken meat for preservation and found that the tested conditions contributed to a reduction in the bacterial population. Mesophilic bacteria were reduced by 3.2-3.8 log CFU/g, while for psychophilic bacteria, which turned out to be more sensitive, a reduction of 3.6 to 5.2 log CFU/g was observed compared to the control sample. In this study, unlike the cited source, a reduction in the number of psychophilic bacteria was observed at a similar level as mesophilic bacteria (Table 1). This could be due to the higher sensitivity achieved by alternating low pressure (60 MPa) and high pressure (450 MPa), which caused the germination and subsequent inactivation of psychophilic bacterial spores [Yuste *et al.* 2001b].

So far, global publications do not report on food preservation, especially meat, using high-pressure technology combined with curcumin, which has antimicrobial properties [Zheng *et al.*, 2020]. However, the independent addition of 13.12 µg/g curcumin in oysters reduced the count of mesophiles and psychrotrophs by 1.71 and 1.47 log CFU/g, respectively, after 7 days of storage [Koop *et al.*, 2019]. On the other hand, the use of nisin together with high pressure of 450 MPa produced a synergistic effect by causing increased inhibition of bacterial growth

in mechanically separated chicken meat. A concentration of 100 ppm nisin resulted in a 1.6 log reduction in mesophilic bacteria compared to the sample treated with HHP alone and a 2.5 log reduction in psychrotrophic bacteria [Yuste *et al.*, 2001a].

The application of high hydrostatic pressure was also found to be effective in inhibiting the growth of lactic acid bacteria and *Enterobacteriaceae* in chicken breast meat during the first 7 days of refrigerated storage. Samples treated with an additional factor, curcumin or nisin, exhibited a lower number of these microorganisms throughout the study and were significantly different from those without the additional factors. The addition of 2% curcumin resulted in a reduction of 2.8 log in LAB growth, and nisin resulted in a reduction of 3.2 log compared to HPP alone on the 14th day of storage. In the case of *Enterobacteriaceae*, the addition of 2% curcumin or nisin resulted in a 2-log reduction in the number of these microorganisms on the 14th day of storage, and these results did not differ significantly. A decrease in the number of *Enterobacteriaceae* in the meat after the HHP process was observed at the end of the storage period, but this may be due to the unevenly contaminated chicken meat surface (Table 1).

Similar observations were noted by Argyri *et al.* [2019] when treating chicken breast meat with hydrostatic pressure of 500 MPa for 10 minutes. The researchers observed no growth of LAB and *Enterobacteriaceae* bacteria for up to 7 days of storage under refrigeration, as well as at 14 days of storage, where the count of these bacteria was <1 log CFU/g. Kruk *et al.* [2011] found the absence of *E. coli* bacteria on day 3 and 7 of storage in chicken fillet after HHP treatment (600 MPa), followed by a reduction in its count by 6 log on day 14 compared to the control sample. In the case of cooked ham, the impact of high pressure at 600 MPa resulted in a reduction of lactic acid bacteria by 4.6 log on the first day of study compared to the control sample, as well as inhibition of *E. coli* growth from 3.5 log CFU/g to below the detection limit [Jofre' *et al.*, 2009].

The present study observed that high hydrostatic pressure inhibited the growth of coagulase-positive staphylococci compared to the control group. The combination of HHP with curcumin did not significantly affect the differences in the number of described microorganisms, while the best result was obtained with pressure-treated meat with the addition of nisin, in which there was no growth of staphylococci throughout the entire storage period (Table 1).

Table 1. Population of microorganisms in chicken breast meat after high hydrostatic pressure treatment with selected factors

Liczebność populacji drobnoustrojów w mięsie z piersi kurczaka po obróbce wysokim ciśnieniem hydrostatycznym wraz z wybranymi czynnikami

The tested microorganisms	Storage time [days]	Microorganism count [log CFU/g of product]				
		Control	HHP	HHP + 1% Curcumin	HHP + 2% Curcumin	HHP + 100 IU/cm ³ Nisin
Total plate count	0	5,28±0,17 ^f	<1	<1	<1	<1
	1	6,18±0,07 ^h	<1	<1	<1	<1
	7	7,52±0,09 ⁱ	4,34±0,08 ^e	3,74±0,06 ^c	3,18±0,07 ^b	2,65±0,06 ^a
	14	7,45±0,04 ⁱ	6,24±0,04 ^h	5,33±0,17 ^f	4,20±0,01 ^{de}	3,98±0,03 ^{cd}
	21	7,26±0,12 ⁱ	5,97±0,03 ^{gh}	5,80±0,01 ^g	5,78±0,10 ^g	5,20±0,04 ^f
Psychrophilic bacteria	0	5,06±0,16 ^f	<1	<1	<1	<1
	1	6,62±0,12 ⁱ	<1	<1	<1	<1
	7	7,67±0,02 ^j	4,63±0,13 ^e	3,83±0,05 ^c	3,24±0,05 ^b	2,85±0,0 ^a
	14	7,73±0,02 ^j	6,28±0,02 ^h	5,32±0,16 ^f	4,18±0,02 ^d	4,03±0,04 ^{cd}
	21	7,55±0,13 ^j	4,98±0,03 ^f	6,23±0,10 ^h	5,86±0,09 ^g	5,88±0,01 ^g
Lactic acid bacteria	0	2,60±0,13 ^d	<1	<1	<1	<1
	1	2,34±0,05 ^{cd}	<1	<1	<1	<1
	7	5,06±0,14 ^{ghi}	<1	<1	<1	<1
	14	5,26±0,15 ⁱ	4,22±0,05 ^f	3,59±0,17 ^e	1,40±0,11 ^b	1,00±0,20 ^a
	21	5,15±0,05 ^{hi}	4,64±0,04 ^g	4,81±0,04 ^{ghi}	2,22±0,07 ^{cd}	2,02±0,11 ^c
Enterobacteriaceae	0	4,22±0,16 ^e	<1	<1	<1	<1
	1	5,44±0,15 ^f	<1	<1	<1	<1
	7	6,33±0,16 ^g	<1	<1	<1	<1
	14	5,97±0,09 ^g	4,55±0,00 ^e	3,63±0,18 ^d	2,26±0,02 ^c	2,11±0,03 ^{bc}
	21	5,97±0,11 ^g	1,30±0,20 ^a	1,74±0,08 ^b	2,10±0,02 ^{bc}	2,17±0,13 ^{bc}
coagulase-positive Staphylococci	0	1,54±0,13 ^b	<1	<1	<1	<1
	21	1,30±0,00 ^b	0,70±0,20 ^a	1,18±0,20 ^{ab}	0,70±0,20 ^a	<1
Pseudomonas spp.	0	3,56±0,10 ^{bc}	<1	<1	<1	<1
	1	4,32±0,08 ^d	<1	<1	<1	<1
	7	4,93±0,09 ^e	4,41±0,08 ^d	3,75±0,14 ^c	3,27±0,02 ^b	2,88±0,02 ^a
	14	6,22±0,13 ^h	5,62±0,01 ^{fg}	4,67±0,14 ^{de}	3,85±0,00 ^c	3,66±0,01 ^c
	21	4,60±0,11 ^{de}	5,55±0,21 ^{fg}	5,48±0,14 ^f	5,84±0,02 ^g	5,68±0,01 ^{fg}
Brochothrix spp.	0	3,85±0,06 ⁱ	<1	<1	<1	<1
	1	4,74±0,01 ^{jk}	<1	<1	<1	<1
	7	5,10±0,12 ^{kl}	3,27±0,18 ^h	1,98±0,09 ^{cde}	1,88±0,14 ^{cd}	1,40±0,11 ^{ab}
	14	5,68±0,13 ^m	4,33±0,00 ^j	2,96±0,17 ^{gh}	1,98±0,13 ^{cde}	1,30±0,09 ^a
	21	5,42±0,13 ^{lm}	1,78±0,12 ^{bc}	2,24±0,17 ^{def}	2,54±0,05 ^{fg}	2,40±0,09 ^{ef}
Yeasts and molds	0	2,44±0,20 ^{cd}	<1	<1	<1	<1
	1	3,01±0,16 ^{efg}	<1	<1	<1	<1
	7	4,11±0,16 ^j	2,51±0,14 ^{cd}	1,85±0,08 ^b	1,04±0,20 ^a	1,30±0,20 ^a
	14	5,34±0,02 ^k	3,83±0,09 ^{ij}	2,61±0,16 ^{cde}	1,78±0,12 ^b	2,20±0,03 ^{bc}
	21	3,41±0,03 ^{ghi}	2,88±0,17 ^{def}	3,10±0,01 ^{fgh}	3,20±0,01 ^{fgh}	3,52±0,03 ^{hi}

Explanatory notes: a, b, c, ..., m - values in the rows and columns marked with different letters differ statistically significantly for a given group of microorganisms ($p \leq 0.05$)

Similar results were obtained by Jofre' *et al.* [2008], where the exclusive use of high hydrostatic pressure had little effect on reducing the count of *S. aureus* in cooked ham compared to other microorganisms such as *L. monocytogenes* or *Salmonella*. However, the researchers observed that the combination of HHP with nisin, as well as the use of nisin alone, was the most effective factor in inhibiting the growth of *S. aureus* during storage at 6°C for 3 months.

After 7 days of storage, the number of *Pseudomonas* bacteria in the meat treated with HHP was found to be similar to that of the control sample. However, combining high-pressure technology with nisin resulted in a 2 log reduction in *Pseudomonas* count compared to the control sample. Additionally, the results obtained from samples with different concentrations of curcumin and nisin in HHP-treated meat after one week of storage showed significant differences from each other (Table 1). In Argyri *et al.* [2019], it was observed that high hydrostatic pressure inhibited the growth of *Pseudomonas* bacteria in chicken meat up to 7 days of storage at 4°C compared to the control sample, where their count was 7 log CFU/g. However, literature data suggest a small effect of nisin on reducing *Pseudomonas* bacteria. The use of this bacteriocin at concentrations of 0.5%, 1%, and 2% on raw beef did not significantly affect the number of microorganisms after 7 days of storage [Cannarsi *et al.*, 2008]. Therefore, it is possible that in this study, the combination of HHP technology with nisin allowed for achieving an inhibitory effect on the growth of the described bacterial population.

It has been observed that high hydrostatic pressure significantly reduced the number of yeasts and molds in the meat up to 14 days of storage. A decrease in their number by 1.6 log in comparison to the control sample was observed after 7 days, while the addition of both 2% of curcumin and nisin, which results belong to one homogeneous group, resulted in a reduction of 3 log (Table 1). In their study, Argyri *et al.* [2019] achieved slightly better results, completely inhibiting the growth of yeast and mold up to 7 days of storage of chicken meat. In the case of the action of only curcumin, Abdeldaiem [2014] obtained insignificant effects of this compound by using a 3% curcumin extract to extend the shelf life of chicken fillets, which reduced the number of yeast and mold (8.9×10^4 CFU/g) compared to the control sample (4.1×10^5 CFU/g) on the 9th day of storage.

The present study observed the inhibition of *Brochothrix* spp. growth in the first day of testing after HHP treatment. Additionally, a 2% solution of curcumin decreased the number of these bacteria by almost 1 log compared to a 1% solution of curcumin on the 14th day of testing, and these results differed significantly from each other. Slightly better results were

obtained with the addition of nisin; it reduced the population of *Brochothrix* spp. by 3 logs compared to the sample after HHP treatment and by 4 logs compared to the control sample on the 14th day of storage, and these results also differed significantly from each other (Table 1).

Andreou *et al.* [2018] reported that the combination of high-pressure processing and osmotic dehydration of chicken meat resulted in a complete reduction of initial *Brochothrix* spp. bacterial counts compared to the control sample (2.9 log CFU/g). Moreover, during the entire 30-day period of the study, the count of these bacteria remained below the detection limit (<2 log CFU/g). In turn, Argyri *et al.* [2019], similarly to the present study, observed the growth of the described microorganisms within 2 days after the application of high hydrostatic pressure of 500 MPa in chicken meat. Furthermore, the population of *Brochothrix* spp. was at a lower level than the control sample throughout the storage period.

Additionally in the tested samples, the presence of pathogenic bacteria, such as *Salmonella* spp. and *Listeria monocytogenes*, was not detected in any of the analyzed samples, indicating the effectiveness of the applied methods in ensuring food safety.

The effect of high pressure on sensory evaluation

After high-pressure treatment, the chicken breast meat appeared creamy-pink in color. Generally, the whitening effect of color after HHP was observed. Samples treated with curcumin had a yellowish color on the meat's surface. The odor was fresh, but it did not resemble the typical meat smell. The texture of the meat changed, becoming more compact but still elastic. No slime or drip loss was observed on the meat's surface. During the storage period, the meat color did not change significantly, unlike the control sample that had a gray-pink hue. The meat structure remained compact, but it lost some of its springiness. On the seventh day of storage, an increased amount of leakage was noted in all samples, especially in the meat treated with curcumin and nisin, compared to the untreated meat. The amount of releasing water slightly increased by the end of the storage period (Table 2).

On the 21st day, the meat color was creamy with slightly grayish highlights in the HHP and nisin-treated sample. The odor remained neutral, but in the nisin-treated meat, a slightly acidic smell was detectable. The control sample, on the other hand, had an off-color and a musty, acidic sour odor. Until the end of the storage period, compared to the control sample, no slime was observed on the surface of the meat subjected to high pressure, and its structure slightly softened. Despite the increased amount of water loss and the change in color to creamy, the poultry fillets had an acceptable sensory quality for up to 14 days of storage under refrigeration compared to the control sample, which had acceptable quality for up to 7 days of

storage (Table 2).

Similar results were obtained by Kruk *et al.* [2011] when subjecting chicken breast meat to high pressure at values of 300, 450, and 600 MPa. The authors observed a significant effect of pressure on meat color lightening. The pressure of 600 MPa had the greatest impact on color change compared to lower values of applied pressure. Additionally, it was noted that high pressure increased the meat moisture content by almost 5% compared to the control sample. The authors suggest that due to the presence of approximately 75% water in lean meat muscles, any effect on structural changes in meat (i.e. high pressure) may cause the release of water contained in these structures and as a consequence, an increased amount of drip loss.

Table 2. Sensory quality of the chicken breast meat treated with high hydrostatic pressure in the following days of refrigerated storage

Jakość sensoryczna badanych filetów kurzych potraktowanego wysokim ciśnieniem hydrostatycznym w kolejnych dniach przechowywania w warunkach chłodniczych

Type of sample	Storage time [days]			
	0 & 1	7	14	21
Control	Fresh, bright pink color with no discoloration, glossy, characteristic smell of poultry. Elastic texture with no loss of structure, no slime, no leakage.	Pink color, without discoloration, neutral smell. Less elastic texture, no slime on the surface, small clear leakage.	Gray-pink color, musty and sour odor. Soft consistency, slime on the surface, cloudy leakage.	Greyish and stale color, with a musty and putrid odor. Total loss of consistency, large amount of slime on the surface, and a significant amount of cloudy leakage.
HHP	Creamy-pink color, fresh smell. Slightly less elastic texture, delicate loss of structure, no slime, no leakage.	Creamy-pink color, fresh smell. Less elastic texture, delicate loss of structure, no slime, delicate clear leakage.	Cream color, neutral odor. Low elasticity, no slime, high amount of clear leakage.	Creamy color, slightly grey, with a neutral odor. Soft consistency, no slime, cloudy leakage.
HHP + 1% Curcumin	Creamy-pink color inside, slightly yellowish outside, fresh smell. Slightly less elastic texture, no slime, no leakage.	Creamy-pink color inside, slightly yellowish outside. Less elastic texture, fresh smell, no slime, clear leakage.	Cream color inside, yellowish on the outside. Low elasticity, slightly altered neutral odor, no slime, high amount of clear leakage.	Creamy, yellowish color with a changed but neutral odor. Soft consistency, no slime, large amount of cloudy leakage.
HHP + 2% Curcumin	Creamy-pink color inside, yellowish outside, fresh smell. Slightly less elastic texture, no slime, no leakage.	Creamy-pink color inside, yellowish outside, fresh smell. Less elastic texture, no slime, clear leakage.		
HHP +100 IU/cm ³ Nisin	Creamy-pink color, fresh smell. Slightly less elastic texture, delicate loss of structure, no slime, no leakage.	Creamy-pink color, fresh smell. Less elastic texture, delicate loss of structure, no slime, clear leakage.	Cream color, slightly sour and neutral odor. Low elasticity, no slime, high amount of clear leakage.	Creamy, slightly grey color with a slightly sour and neutral odor. Soft consistency, no slime, large amount of cloudy leakage.

Confirmatory results regarding the lightening of color in meat treated with high hydrostatic pressure were obtained in another study. The authors observed a clear gradient of color lightening from control samples to those pressurized at 600 MPa. Visible color changes occurred already at 300 MPa for pork and turkey meat, and at 200 MPa for chicken meat [Tintchev *et al.*, 2010].

CONCLUSIONS

The results obtained in this study indicate that high hydrostatic pressure influenced the reduction of microorganisms' count throughout the storage period of breast muscles of meat broiler chickens. The addition of 1% and 2% curcumin and nisin solutions to samples treated with high hydrostatic pressure strengthened the effect of high hydrostatic pressure up to 14 days of storage, which may represent significant potential in technological processes. Moreover, it has been shown that the use of high hydrostatic pressure caused a lightening of the meat color and an increased amount of drip loss, while the meat structure became more compact, and no deterioration of meat odor was observed. In conclusion, the use of high hydrostatic pressure extended the shelf life of poultry meat (both microbiological and sensory) from 7 to 14 days of storage. The application of high hydrostatic pressure in the food industry together with natural additives such as herbs, spices, and bacteriocins could represent a new solution for food preservation for food producers. In the long term, it would allow for a reduction in the use of thermal methods that reduce product quality and the use of preservatives.

REFERENCES

1. Abdeldaiem M.H. (2014). Use of Yellow Pigment Extracted from Turmeric (*Curcuma Longa*) Rhizomes Powder as Natural Food Preservative. American Journal of Food Science and Technology, 2, 1, 36-47; doi:10.12691/ajfst-2-1-6
2. Adamczak A., Ożarowski M., Karpiński T.M. (2020). Curcumin, a Natural Antimicrobial Agent with Strain-Specific Activity. Pharmaceuticals (Basel), 13 (7), 1-12; doi.org/10.3390/ph13070153
3. Andreou V., Tsironi T., Dermesonlouoglou E., Katsaros G., Taoukis P. (2018). Combinatory effect of osmotic and high pressure processing on shelf life extension of animal origin products – Application to chilled chicken breast fillets. Food Packaging and Shelf Life, 15, 43-51; doi.org/10.1016/j.fpsl.2017.11.002

4. Argyri A.A., Papadopoulou O.S., Sourri P., Chorianopoulos N., Tassou C.C. (2019). Quality and Safety of Fresh Chicken Fillets after High Pressure Processing: Survival of Indigenous *Brochothrix thermosphacta* and Inoculated *Listeria monocytogenes*. Microorganisms. 7(11):520; doi.org/10.3390/microorganisms7110520
5. Bermúdez-Aguirre D., Barbosa-Cánovas G.V. (2011). An Update on High Hydrostatic Pressure, from the Laboratory to Industrial Applications. Food Engineering Reviews, 3, 44–61; doi.org/10.1007/s12393-010-9030-4
6. Bolumar T., Orlien V., Bak K., Aganovic K., Sikes A., Guyon C., Stübler A., Lamballerie M., Hertel C., Brüggemann D. (2020). High-pressure processing (HPP) of meat products: Impact on quality and applications. Comprehensive Reviews In Food Science And Food Safety, 20 (1), 332-368, doi.org/10.1016/B978-0-12-816405-1.00010-8
7. Cannarsi M., Baiano A., Sinigaglia M., Ferrara L., Baculo R., Del Nobile M.A. (2008). Use of nisin, lysozyme and EDTA for inhibiting microbial growth in chilled buffalo meat. International Journal of Food Science & Technology, 43: 573-578; doi.org/10.1111/j.1365-2621.2006.01438.x
8. Chmiel M., Słowiński M. (2018). Effect of Storage in Display Cases on the Sensory Quality of Chicken Breast Meat (*M. Pectoralis*). Brazilian Journal of Poultry Science, 20 (1), 91–98; doi.org/10.1590/1806-9061-2017-0628
9. Galarz L.A., Fonseca G.G., Prentice C. (2016). Predicting bacterial growth in raw, salted, and cooked chicken breast fillets during storage. Food Science and Technology International, 22(6):461-74; doi.org/10.1177/1082013215618519
10. Garriga M., Grèbol N., Aymerich M.T., Monfort J.M., Hugas M. (2004). Microbial inactivation after high-pressure processing at 600 MPa in commercial meat products over its shelf life. Innovative Food Science & Emerging Technologies, 5 (4), 451-457; doi.org/10.1016/j.ifset.2004.07.001
11. Hilgarth M., Fuertes S., Ehrmann M., Vogel R.F. (2018). *Photobacterium carnosum* sp. nov., isolated from spoiled modified atmosphere packaged poultry meat. Systematic and Applied Microbiology, 41(1):44-50; doi: 10.1016/j.syapm.2017.11.002
12. Hogan E., Kelly A.L., Sun D.W. (2005). High Pressure Processing of Foods: An Overview. Emerging Technologies for Food Processing, Academic Press, 3-32; doi.org/10.1016/B978-012676757-5/50003-7

13. Huang H.W., Wu S.J., Lu J.K., Shyu Y.T., Wang C.Y. (2017). Current status and future trends of high-pressure processing in food industry. *Food Control*, 72 (A), 1-8; doi.org/10.1016/j.foodcont.2016.07.019
14. ISO 13722:2017 Microbiology of the food chain. Enumeration of *Brochothrix* spp. Colony count technique
15. Jofré A., Garriga M., Aymerich T. (2008). Inhibition of *Salmonella* sp. *Listeria monocytogenes* and *Staphylococcus aureus* in cooked ham by combining antimicrobials, high hydrostatic pressure and refrigeration. *Meat science*. 78. 53-9; doi.org/10.1016/j.meatsci.2007.06.015
16. Jofré A., Aymerich T., Grebol N., Garriga M. (2009). Efficiency of high hydrostatic pressure at 600 MPa against food-borne microorganisms by challenge tests on convenience meat products. *Food Science and Technology*, 42 (5), 924-928; doi.org/10.1016/j.lwt.2008.12.001
17. Koop B.L., Cargnin M.A., Fidler F et al. (2019). Vacuum curcumin infusion in cooked oysters (*Crassostrea gigas*) to increase their shelf life. *Journal of Food Process Engineering*, 42:e13234; doi.org/10.1111/jfpe.13234
18. Kruk Z., Yun H., Rutley D.L., Lee E.J., Kim Y.J., Jo C. (2011). The effect of high pressure on microbial population, meat quality and sensory characteristics of chicken breast fillet. *Food Control*, 22, 1, 6-12; doi.org/10.1016/j.foodcont.2010.06.003.
19. Lachowicz M., Stańczak A., Kołodziejczyk M. (2021). Kurkumina – naturalny polifenol o wielu właściwościach – rozwiązania technologiczne wspomagające farmakoterapię. *Farmacja Polska*, 76 (11), 603–610; doi.org/10.32383/farmpol/132183
20. Makala H. (2019). Zastosowanie metody wysokich ciśnień w przetwórstwie mięsa i produktów mięsnych. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 26, 4 (121), 38-53; doi.org/10.15193/zntj/2019/121/311
21. O'Brien J.K., Marshall R.T. (1996). Microbiological quality of raw ground chicken processed at high isostatic pressure. *Journal of Food Protection*, 59 (2), 146-150; doi.org/10.4315/0362-028X-59.2.146
22. Pietrzak D. (2010). Perspektywy stosowania wysokich ciśnień w produkcji żywności wygodnej z mięsa drobiowego. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*; 17(2):16-28; 10.15193/zntj/2010/69/016-028
23. PN-EN ISO 11290-2:2017-07 Mikrobiologia łańcucha żywnościowego. Horyzontalna metoda wykrywania i oznaczania liczby *Listeria monocytogenes* i innych *Listeria* spp. - Część 2: Metoda oznaczania liczby.

24. PN-EN ISO 21528-2:2017 Mikrobiologia żywności i pasz. Horyzontalna metoda wykrywania i oznaczania liczby *Enterobacteriaceae* - Część 2: Metoda płytkowa.
25. PN-EN ISO 4833-1:2013-12 + Ap1:2016-11 Mikrobiologia łańcucha żywnościowego. Horyzontalna metoda oznaczania liczby drobnoustrojów. Część 1: Oznaczanie liczby metodą posiewu w głębokiego w temperaturze 30 stopni C.
26. PN-EN ISO 6579-1:2017-04 Mikrobiologia łańcucha żywnościowego - Horyzontalna metoda wykrywania, oznaczania liczby i serotypowania *Salmonella* - Część 1: Wykrywanie *Salmonella* spp.
27. PN-EN ISO 6888-2:2001 + A1:2004 Mikrobiologia żywności i pasz. Horyzontalna metoda oznaczania liczby gronkowców koagulazo-dodatnich (*Staphylococcus aureus* i innych gatunków). Część 2: Metoda z zastosowaniem pożywki agarowej z plazmą króliczą i fibrynogenem.
28. PN-EN ISO 7218:2008 + A1:2013-10. Mikrobiologia żywności i pasz - Wymagania ogólne i zasady badań mikrobiologicznych.
29. PN-ISO 13720:1999 Mięso i przetwory mięsne. Oznaczanie liczby bakterii z rodzaju *Pseudomonas*.
30. PN-ISO 15214:2002 Mikrobiologia żywności i pasz. Horyzontalna metoda oznaczania liczby mezofilnych bakterii fermentacji mlekowej. Metoda płytkowa w temperaturze 30°C.
31. PN-ISO 21527-1:2009 Mikrobiologia żywności i pasz. Horyzontalna metoda oznaczania liczby drożdży i pleśni. Część 1: Metoda liczenia kolonii w produktach o aktywności wody wyższej niż 0,95.
32. Priyadarsini K.I. (2014). The Chemistry of Curcumin: From Extraction to Therapeutic Agent. *Molecules*, 19, 20091-20112; doi.org/10.3390/molecules191220091
33. Punyauppa-path S., Phumkhachorn P., Rattanachaikunsopon P. (2015). Nisin: production and mechanism of antimicrobial action. *International Journal Of Current Research And Review*, 7, 47-53; http://www.ijcrr.com/abstract.php?article_id=651#/
34. Santos J., Sousa R., Oton C., Moraes A., Souza V., Medeiros E., Espitia P., Pires A., Coimbra J., Soares N. (2018). Nisin and other antimicrobial peptides: Production, mechanisms of action, and application in active food packaging. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 48, 179-194; doi.org/10.1016/j.ifset.2018.06.008
35. Sehrawat R., Kaur B., Nema P., Tewari S., Kumar L. (2020). Microbial inactivation by high pressure processing: principle, mechanism and factors responsible. *Food Science and Biotechnology*, 30 (1), 19-35; doi.org/10.1007/s10068-020-00831-6

36. Steeg P.F., Hellemons J.C., Kok A.E. (1999). Synergistic Actions of Nisin, Sublethal Ultrahigh Pressure, and Reduced Temperature on Bacteria and Yeast. *Microbiology*, 65 (9), 4148-4154; doi.org/10.1128/AEM.65.9.4148-4154.1999
37. Tintchev F., Wackerbarth H., Kuhlmann U., Toepfl S., Knorr D., Hildebrandt P., Heinz V. (2010). Molecular effects of high-pressure processing on food studied by resonance Raman. *Annals Of The New York Academy Of Sciences*, 1189, 34-42; doi.org/10.1111/j.1749-6632.2009.05204.x
38. Yuste J., Pla R., Capellas M., Mor-Mur M. (2001a). Application of high-pressure processing and nisin to mechanically recovered poultry meat for microbial decontamination. *Food Control*, 13, 451-455; doi.org/10.1016/S0956-7135(01)00071-8
39. Yuste J., Pla R., Capellas M., Sendra E., Beltran E., Mor-Mur M. (2001b). Oscillatory High Pressure Processing Applied to Mechanically Recovered Poultry Meat for Bacterial Inactivation. *Journal Of Food Science*, 66 (3), 482-484; doi.org/10.1111/j.1365-2621.2001.tb16135.x
40. Zheng D., Huang C., Huang H., Zhao Y., Khan M., Zhao H., Huang L. (2020). Antibacterial Mechanism of Curcumin: A Review. *Chemistry & Biodiversity*, 17, 1-13; doi.org/10.1002/cbdv.202000171

THE ASSESSMENT OF THE SUITABILITY OF SELECTED MEDIA TO ENUMERATION OF LACTIC ACID BACTERIA IN BEER

Ewa Waldon-Wiewióra, Barbara Sokołowska, Jolanta Niezgoda

Prof. Waław Dąbrowski Institute of Agricultural and Food Biotechnology
State Research Institute
Department of Microbiology
Laboratory of Analysis of Microbiological Quality
36 Rakowiecka Str., 02-532 Warsaw, Poland

ewa.waldon@ibprs.pl

Received: 31 May 2023

Revised: 8 January 2024

Accepted: 8 January 2024

Summary

Beer, despite its unfavorable composition, is a good environment for microorganisms. Beer contamination usually occurs during the technological process. The most common causes are poor-quality raw materials, water, air, or an inadequate curing process for the finished beer. The spoilage microflora of beer are lactic acid bacteria, Gram (-) bacteria, acetic bacteria, and wild yeast.

The article presents the microbiological media used to determine the number of lactic acid bacteria. The effect of the addition of cycloheximide on the growth of these bacteria was also investigated. The study involved three culture media: MRS agar, Nbb agar, and UBA with various cycloheximide and three strains of lactic acid bacteria: *Levilactobacillus brevis* 111/2014, *Leuconostoc mesenteroides* 52/2008 and *Pediococcus pentosaceus* 70/2010.

All the tested lactic acid bacteria strains did not show any significant differences in growth depending on the kind of medium, concentration of cycloheximide, and the oxygen availability.

Keywords: beer, lactic acid bacteria, cycloheksymide, microbiological contamination

OCENA PRZYDATNOŚCI WYBRANYCH POŻYWEK MIKROBIOLOGICZNYCH DO OZNACZANIA LICZBY BAKTERII FERMENTACJI MLEKOWEJ W PIWIE

Streszczenie

Piwo mimo mało sprzyjającego składu, jest dobrym środowiskiem do bytowania drobnoustrojów. Do zanieczyszczenia piwa zazwyczaj dochodzi w trakcie procesu technologicznego. Najczęstszą przyczyną są złej jakości surowce, woda, powietrze lub nieodpowiedni proces utrwalania gotowego piwa. Szkodliwą mikroflorę piwa stanowią bakterie fermentacji mlekowej, bakterie Gram (-), bakterie octowe i drożdże dzikie.

W artykule przedstawiono podłoża mikrobiologiczne wykorzystywane do oznaczania liczby bakterii fermentacji mlekowej. Zbadano również wpływ dodatku cykloheksymidu na wzrost tych bakterii. Do badań wykorzystano trzy podłoża: MRS agar, Nbb agar i UBA o różnych stężeniach cykloheksymidu oraz trzy szczepy bakterii fermentacji mlekowej: *Levilactobacillus brevis* 111/2014, *Leuconostoc mesenteroides* 52/2008 oraz *Pediococcus pentosaceus* 70/2010.

Wszystkie badane szczepy bakterii fermentacji mlekowej nie wykazywały istotnych różnic we wzroście w zależności od rodzaju podłoża, stężenia cykloheksymidu oraz dostępności tlenu.

Słowa kluczowe: piwo, bakterie fermentacji mlekowej, cykloheksymid, zanieczyszczenie mikrobiologiczne

INTRODUCTION

Beer is the oldest and most consumed alcoholic beverage and the third most popular beverage in the world after water and tea. Brewing was started by the Egyptians and Sumerians around 2000-4000 BC [Ross et al. 2002]. Beer is defined as a fermented beverage made from malted grain (usually barley), hops, yeast, and water [Rodrigues and Gil 2011, Rachon et al. 2022]. For the production of this drink, other grains are also used, such as wheat, oats, rice, and corn.

The production of beer is most often carried out as follows: crushed malt is mixed with warm water, sometimes with the addition of other starch raw materials and enzymes. In this way, wort is obtained, which is cooked together with the hops, and then clarified and cooled. The added brewer's yeast starts the process of fermentation of sugars with the formation of alcohol. The resulting beer is usually filtered and served as a sparkling drink, with carbon

dioxide bubbles releasing to form foam [Willaert 2007, Munford et al. 2017, Thesseling et al. 2019].

Beer is a microbiologically stable beverage due to the presence of alcohol (0.5-10%), bitter hop acids (approx. 17-55 ppm iso- α -acids), CO₂ (approx. 0.5%), sulfur dioxide, as well as deficiency of dissolved oxygen (<0.3 ppm) [Sakamoto and Konings 2003, Suzuki et al. 2006; Iijima et al. 2007, Suzuki et al. 2008, Behr, Vogel 2009, Michel et al. 2020]. Beer is also poor in nutrients as they are almost depleted by the fermentation activity of brewer's yeast [Suzuki et al. 2006, Deng et al. 2014, Suzuki 2011]. Low pH (3.8-4.7) prevents the growth of most gram-negative bacteria, and bitter hop acids act as preservatives and usually prevent lactic acid bacteria from spoiling beer [Vaughan et al. 2005, Suzuki et al. 2006, Iijima et al. 2007, Suzuki 2011, Oladokun et al. 2017, Bartmańska et al. 2018].

In production practice, however, cases of beer spoilage are observed. In order for beer to become contaminated, microorganisms must get into the wort and survive the fermentation process and most often pasteurization or contaminate the beer during bottling. They can get into the wort in very different ways, e.g. with poor quality raw materials, water, and air, as a result of lack of hygiene of equipment and personnel [Suzuki 2011, Bianco 2019]. Four types of microbial behavior were observed as they entered the product. The first of them are sensitive to the conditions prevailing in beer and immediately die. The second ones survive in beer for several days but are unable to develop and also die. The third group of microorganisms can grow in the product, but under the influence of conditions prevailing in beer or lack of food, after some time it dies, leaving no visible signs of infection. The last group is formed by microorganisms that develop in beer and give visible growth manifested by turbidity [Paradh 2015, Quain 2021].

The largest group of spoilage microorganisms in beer production are lactic acid bacteria of the genus *Lactobacillus* and *Pediococcus*, with the species *Lactobacillus brevis* (current name *Levilactobacillus brevis*) and *Pediococcus damnosus* being the most common cause of these events [Czajkowska 1996, Sakamoto and Konings 2003, Back 2005, Suzuki et al. 2008, Bokulich and Bamforth 2013]. These bacteria cause turbidity of beer, some species also produce extracellular polysaccharides, which give the effect of a viscous suspension, additionally produce lactic, acetic, and diacetyl acid, which adversely affects the organoleptic characteristics of beer. These microorganisms can acidify wort so much that it inhibits the development of noble yeast, in addition, they can be resistant to alcohol contained in beer [Oberman and Kręgiel 2003a, b, Żyrek 2008].

The second group of spoilage microorganisms in beer production are gram-negative

bacteria, including *Enterobacteriaceae*, and acetic bacteria *Acetobacter aceti*, *Acetobacter pasteurianus* and *Gluconobacter oxydans*. These bacteria oxidize ethanol to acetic acid, turning beer into vinegar. Cases of spoilage of unpasteurized beer caused by Gram-negative anaerobic bacteria of the *Veillonellaceae* family, including genera such as *Pectinatus*, *Megasphaera*, *Selenomonas* and *Zymophilus* [Sakamoto and Konings 2003, Paradh et al. 2011, Bokulich and Bamforth 2013]. These bacteria cause turbidity of beer, produce propionic acid, acetic acid, hydrogen sulfide, mercaptans in large quantities and inhibit the development of noble yeast. These infections contribute to a decrease in the sensory value of beer.

The third group of microorganisms causing beer spoilage are wild yeasts of the genera *Brettanomyces*, *Candida*, *Torula*, *Hansenula*, *Kloeckera* and *Pichia* [Baca et al. 1996, Satora and Tuszyński 2004, Baca and Osuch 2012]. Symptoms of growth of these yeasts in beer are turbidity, sediment, production of ester compounds with fruity aromas or phenolic compounds such as 4-vinylphenol and 4-vinylguaiacol with medical odor, clove or 4-ethylguaiacol and 4-ethylphenol with the smell of sweat, smoke or bandages. There is also a phenomenon leading to higher carbonation of the product [Baca et al. 1996, Oberman and Kręgiel 2003a, b].

Since lactic acid bacteria are a large group of microorganisms that spoil beer, the research was aimed to assess the usefulness of selected media used to determine their number, in terms of method validation and fulfillment of accreditation requirements.

MATERIAL AND TEST METHODS

The work used three types of media routinely used in our laboratory to enable the growth of lactic acid bacteria: Merck's MRSA and UBA, and Döhler's Nbb-A medium. The composition and preparation conditions as well as the pH range of the media used are presented in Table 1. The biological material consisted of three strains of lactic acid bacteria from the collection of microorganisms of the Laboratory of Analysis of Microbiological Quality of the Department of Fruit and Vegetable Product Technology. These were: *Levilactobacillus brevis* 111/2014, *Leuconostoc mesenteroides* 52/2008, and *Pediococcus pentosaceus* 70/2010. All strains were stored in CRYOBANK at -25°C.

Broth subculture was prepared by inoculating a tube containing 10 mL of MRS broth (Merck) with the culture immobilized on a sterile bead. After inoculation, tubes were incubated at 30°C for 24 h. Then culture was serially diluted in Maximum Recovery Diluents (Merck), and spread on agars. Each strain was plated onto three variants of the medium: medium with the addition of 4 mg/mL or 10 mg/mL cycloheximide, and medium without the

addition of this compound, for two plates in three repetitions. Cycloheximide was added to liquefied and cooled to 45°C medium just before pouring onto petri dishes. MRSA and UBA media were incubated both under microaerophilic conditions with increased CO₂ concentrations and aerobic conditions for 72 hours (MRS) and 120 hours (UBA), while Nbb-A was incubated only under anaerobic conditions for 144 hours. The temperature of all incubations was 30°C. Microaerophilic conditions were achieved by placing Genbox CO₂ cartridges in containers with incubated plates, and anaerobic conditions using Genbox anaer cartridges, both produced by bioMerieux.

The results obtained in the experiment were statistically developed using a uniform ANOVA analysis and Tukey test, at a significance level of $\alpha=0.05$ using the StatSoft® Statistica 13.2 program.

Table 1. Composition, preparation, and pH values of the tested culture media
Skład, przygotowanie i wartości pH badanych pożywek

Medium	MRSA	UBA	Nbb-A
Composition	Agar 12g/L Diammonium citrate 2 g/L Dipotassium hydrogen phosphate 2g/L Glucose 20g/L Magnesium sulfate heptahydrate 0.2 g/L Manganous sulfate tetrahydrate 0.05 g/L Meat extract 10 g/L Meat peptone (peptic) 10 g/L Sodium acetate trihydrate 5 g/L Yeast extract 5 g/L	Agar 12 g/L Dextrose 16.1 g/L Dipotassium phosphate 0.31 g/L Ferrous sulfate 0.006 g/L Magnesium sulfate 0.12 g/L Manganese sulfate 0.006 g/L Monopotassium phosphate 0.31 g/L Peptonized milk 15 g/L Sodium chloride 0.006 g/L Tomato juice 12.2 g/L Yeast extract 6.1 g/L	Company Secret
Preparation	Suspend 66.24 g in 1000 mL of distilled water. Heat to boiling to dissolve the medium completely, sterilize by autoclaving at 121°C for 15 minutes.	Suspend 62.16 g in 750 mL of distilled water. Heat to boiling to dissolve the medium completely. Add 250 mL beer, without degassing, to the hot medium and mix gently. Dispense as desired and sterilize by autoclaving at 121°C for 10 minutes.	The nutrient solution is ready in bottles of 250 mL
pH	5,7±0,2	6,3±0,2	5.75±0,15

RESULTS AND DISCUSSION

The following media are used as standard for the detection of microbiological contamination in beer: MRS-agar (De Man Rogosa Sharpe Agar), Raka-Ray medium, VLB S7-S, HLP, WLD, Nakagawa, SDA, MRS concentrated medium, PYF, Thioglycolate agar, LL-agar, UBA (Universal Beer Agar), Nbb-A (Nachweismedium für bierschädliche Bakterien - Agar), Brewer's Tomato Juice Medium, LMDA, BMB, SMMP [Sakamoto and Konings, 2003, ECB 2005, Suzuki et al. 2008]. MRS-agar medium is used to detect lactic acid bacteria, UBA medium enables the growth of lactic acid bacteria, yeast, and Gram (-) bacteria under aerobic and microaerophilic conditions. Yeast can also grow on these media, therefore, to inhibit their growth, the addition of cycloheximide (Actidion) is used. It is an antibiotic produced by actinomyces *Streptomyces griseus*. It belongs to the inhibitors of protein synthesis at the RNA level. The addition of 4 mg of cycloheximide per ml of medium inhibits the growth of brewer's yeast, and with a content of 10 mg/mL the growth of most wild yeasts is also inhibited [Baca et al. 1996, Tuszyński and Makarewicz 1998, EBC 2005, Suzuki et al. 2008]. Nbb-A medium is used to detect both lactic acid bacteria and Gram (-) bacteria growing under anaerobic conditions [Satora and Tuszyński 2004]. The composition of the Nbb-A medium is a secret of the manufacturer, who, however, declares that it contains inhibitory substances.

The results obtained from cultures of individual lactic acid bacteria for selected media are presented in Table 2. The population of *Levilactobacillus brevis* 111/2014 ranged from 8.83 log cfu/mL to 8.93 log cfu/mL depending on the medium, cycloheximide addition, and incubation conditions (oxygen availability). The obtained values are not statistically different. Similarly, for *Pediococcus pentosaceus* 70/2010, the resulting population ranging from 9.15 log cfu/mL to 9.24 log cfu/mL, and the differences are not statistically significant. The population of *Leuconostoc mesenteroides* 52/2008 ranged from 8.52 log cfu/mL to 8.72 log cfu/mL and the differences obtained are statistically insignificant.

The population of three tested strains of lactic acid bacteria did not differ statistically significantly regardless of the type of medium and incubation conditions (oxygen availability). Also, the addition of cycloheximide did not significantly affect their abundance, which is important in the aspect of studying cloudy and unpasteurized beers.

The appearance of the colony of lactic acid bacteria varied depending on the medium. On MRSA medium, these bacteria grew in the form of shiny, opaque, round, white, or light cream colonies with a diameter of 1 to 3 mm. On the UBA medium the colonies were smaller

than on MRSA and light ash color, while on the Nbb-A medium the colonies were about 3 mm in size and creamy yellow.

The study used traditional microbiological methods to determine the number of bacteria contaminating beer. Unfortunately, the plate culture method is a laborious and time-consuming technique, its advantage is high accuracy. There are also many modern and faster tests, such as molecular methods. These include PCR and antibody-based techniques. Unfortunately, they require reagents adapted to each microorganism and only give a pass/fail result, which generates high costs for these methods. Unlike other molecular methods, the MALDI-TOF MS technique is one of the cheaper methods. Its advantages are: low operating costs, ease of technology, short lead time, the possibility of expanding the database of designated microorganisms [Esmaeili et al. 2015, Turvey et al. 2017, Michel et al. 2020].

Table 2. Growth of tested strains on all analyzed media
Wzrost badanych szczepów na wszystkich analizowanych pożywkach

Incubation conditions and nutrient medium	Test strain		
	<i>Levilactobacillus brevis</i> 111/2014	<i>Pediococcus pentosaceus</i> 70/2010	<i>Leuconostoc mesenteroides</i> 52/2008
aerobic conditions	log [cfu/mL]	log [cfu/mL]	log [cfu/mL]
MRS	8,83±0,08 ^a	9,20±0,11 ^a	8,66±0,10 ^a
MRS +4mg cycloheximide	8,88±0,06 ^a	9,18±0,04 ^a	8,63±0,06 ^a
MRS +10mg cycloheximide	8,85±0,07 ^a	9,23±0,07 ^a	8,71±0,10 ^a
UBA	8,88±0,08 ^a	9,15±0,06 ^a	8,67±0,08 ^a
UBA +4mg cycloheximide	8,90±0,05 ^a	9,18±0,07 ^a	8,66±0,07 ^a
UBA +10mg cycloheximide	8,87±0,08 ^a	9,20±0,03 ^a	8,65±0,07 ^a
CO ₂ conditions	log [cfu/mL]	log [cfu/mL]	log [cfu/mL]
MRS	8,93±0,10 ^a	9,20±0,05 ^a	8,58±0,04 ^a
MRS +4mg cycloheximide	8,85±0,05 ^a	9,15±0,07 ^a	8,58±0,07 ^a
MRS +10mg cycloheximide	8,86±0,07 ^a	9,18±0,06 ^a	8,67±0,07 ^a
UBA	8,82±0,09 ^a	9,20±0,07 ^a	8,68±0,08 ^a
UBA +4mg cycloheximide	8,87±0,05 ^a	9,23±0,09 ^a	8,67±0,06 ^a
UBA +10mg cycloheximide	8,91±0,06 ^a	9,20±0,07 ^a	8,68±0,05 ^a
anaerobic conditions	log [cfu/mL]	log [cfu/mL]	log [cfu/mL]
Nbb	8,86±0,06 ^a	9,19±0,06 ^a	8,71±0,05 ^a
Nbb +4mg cycloheximide	8,89±0,09 ^a	9,22±0,07 ^a	8,72±0,06 ^a
Nbb +10mg cycloheximide	8,85±0,06 ^a	9,24±0,08 ^a	8,52±0,05 ^a

All data were the mean ± SD, n=3. Values in columns denoted with different letter are significantly different at p<0.05

CONCLUSIONS

- The applied media enabled the growth of four tested strains of lactic acid bacteria.
- The concentration of cycloheximide in the medium had no significant effect on the growth of the four lactic acid bacterial tested strains.
- The availability of oxygen during the incubation of four strains of lactic acid bacteria on MRS and UBA medium did not affect their growth.
- It has been confirmed that MRS agar, UBA, and Nbb media can be used in routine microbiological quality testing of beer.

REFERENCES

1. Baca E., Ilnicka-Olejniczak O., Misiewicz A. (1996). Drożdże piwowskie, ich charakterystyka i wymagania przemysłu. *Przemysł Fermentacyjny i Owocowo-Warzywny*, 12 (40), 12-14
2. Baca E., Osuch B. (2012). Metody oceny i liczenia zawartości komórek drożdży w danej objętości podłoża. W: *Drożdże piwne. Klasyfikacja, właściwości, hodowla drożdży, metody oceny ich jakości i przydatności technologicznej*. Praca zbiorowa pod redakcją Andrzeja Brudzyńskiego, Monografia, Warszawa 2012
3. Back W. (2005). *Colour Atlas and Handbook of Beverage Biology*. W. Back (ed.). Verlag Hans Carl: Nürnberg, Germany.
4. Bartmańska A, Walecka-Zacharska E, Tronina T, Popłoński J, Sordon S, Brzezowska E, Bania J, Huszcza E. (2018). Antimicrobial properties of spent hops extracts, flavonoids isolated therefrom, and their derivatives. *Molecules* 23 (8), 2059-2070. <https://doi.org/10.3390/molecules23082059>
5. Behr J, Vogel R.F. (2009). Mechanisms of hop inhibition: hop ionophores. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 57(14):6074-81. DOI:10.1021/jf900847y
6. Bianco A., Fancello F., Balmas V., Dettori M., Motroni A., Zara G., Budroni M. (2019). Microbial communities and malt quality of durum wheat used in brewing. *Journal of The Institute of Brewing* 125(2): 222–229 DOI 10.1002/jib.555
7. Bokulich N.A., Bamforth C.W. (2013). The Microbiology of Malting and Brewing. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 77(2), 157–172
8. Czajkowska D. (1996). Szkodliwe mikroorganizmy w przemyśle piwowarskim. *Przemysł Fermentacyjny i Owocowo-Warzywny*, 10, 12-13

9. Deng Y., Liu J., Li H., Li L., Tu J., Fang H., Chen J., Qian F. (2014). An improved plate culture procedure for the rapid detection of beer-spoilage lactic acid bacteria. *Journal of The Institute of Brewing* 120(2):127-132; DOI:10.1002/jib.121
10. Esmaeili S, Mogharrabi M, Safi F., Sohrabvandi S., Mortazavian A.M., Bagheripoor-Fallah N. (2015). The common spoilage microorganisms of beer: occurrence, defects and determination – a review. *Carpathian Journal of Food Science and Technology* 7(4), 68-73
11. European Brewery Convention (EBC). (2005). *Analitica - microbiologica - EBC* Wydawnictwo Fachverlag Hans Carl wyd. 2.
12. Iijima K., Suzuki K., Asano S., Kuriyama H. & Kitagawa Y. (2007). Isolation and Identification of Potential Beer-Spoilage *Pediococcus inopinatus* and Beer-Spoilage *Lactobacillus backi* Strains Carrying the *horA* and *horC* Gene Clusters. *Journal of The Institute of Brewing*, 113(1), 96-101.
13. Michel M., Cocuzza S., Biendl M., Peifer F., Hans S, Methner Y., Pehl F., Back W., Jacob F., Hutzler M. (2020). The impact of different hop compounds on the growth of selected beer spoilage bacteria in beer. *Journal of The Institute of Brewing*, 126(4), 354–361, DOI 10.1002/jib.624
14. Munford A.R.G., Alvarenga V.O., do Prado-Silva L., Crucello A., Campagnollo F.B., Chaves R.D., Oteiza J.M., Sant’Ana A.S. (2017). Sporeforming bacteria in beer: Occurrence, diversity, presence of hop resistance genes and fate in alcohol-free and lager beers. *Food Control* 81, 126-136
15. Oberman H., Kręgiel D. (2003a). Wpływ zakażeń mikrobiologicznych na cechy sensoryczne piwa [1] *Przemysł Fermentacyjny i Owocowo-Warzywny* 10 (47), 17-19
16. Oberman H., Kręgiel D. (2003b). Wpływ zakażeń mikrobiologicznych na cechy sensoryczne piwa [2] *Przemysł Fermentacyjny i Owocowo-Warzywny* 11 (47), 16-17
17. Oladokun O., James S., Cowley T., Smart K., Hort J., Cook D. (2017). Dry-hopping: the effects of temperature and hop variety on the bittering profiles and properties of resultant beers. *Brewing Science* 70 (11), 187–196. <https://doi.org/10.23763/BRSC17-18OLADOKU>
18. Paradh A.D., Hill A.E., Mitchell W.J. (2011). Occurrence of *Pectinatus* and *Megasphaera* in the major UK breweries. *Journal of The Institute of Brewing*, 117(4), 498-506, DOI: 10.1002/j.2050-0416.2011.tb00497.x
19. Paradh A.D. (2015). Gram-negative spoilage bacteria in brewing, in *Brewing Microbiology, Managing Microbes, Ensuring Quality and Valorising Waste*, (Hill, A. E.

- Ed.) 1st ed., pp. 174–194, Woodhead, Cambridge. <https://doi.org/10.1016/b978-1-78242-331-7.00008-3>
20. Rachon G., Raleigh C.P., Betts G. (2022). The impact of isomerised hop extract on the heat resistance of yeast ascospores and *Lactobacillus brevis* in premium and alcohol-free lager. *The Institute of Brewing & Distilling* 128(1), 22-27, DOI:10.1002/jib.680
 21. Rodrigues J.E., Gil A.M. (2011). NMR methods for beer characterization and quality control. *Magnetic Resonance in Chemistry*, 49, 37–45, DOI 10.1002/mrc.2844
 22. Ross R.P., Morgan S., Hill C. (2002). Preservation and fermentation: past, present and future. *International Journal of Food Microbiology* 79 (1-2) 3 – 16
 23. Sakamoto K., Konings W.N. (2003). Beer spoilage bacteria and hop resistance. *International Journal of Food Microbiology* 89(2-3), 105– 124, doi:10.1016/S0168-1605(03)00153-3
 24. Satora P., Tuszyński T. (2004). Zakażenia mikrobiologiczne piwa. *Laboratorium-przegląd ogólnopolski*, 4, 13-18
 25. Suzuki K. (2011). 125th Anniversary Review: Microbiological Instability of Beer Caused by Spoilage Bacteria. *Journal of The Institute of Brewing* 117(2):131-155.
 26. Suzuki K., Asano S., Iijima K., Kuriyama H., Kitagawa Y. (2008). Development of detection medium for hard-to-culture beer-spoilage lactic acid bacteria. *Journal of Applied Microbiology* 104, 1458-1470
 27. Suzuki K., Iijima K., Sakamoto K., Sami M., Yamashita H. (2006). A review of hop resistance in beer spoilage lactic acid bacteria. *Journal of The Institute of Brewing*. 112:173–191.
 28. Turvey M.E., Weiland F., Keller E.J., Hoffmann P. (2017). The changing face of microbial quality control practices in the brewing industry: Introducing mass spectrometry proteomic fingerprinting for microbial identification. *Journal of The Institute of Brewing* 123(3), 373–387 <https://doi.org/10.1002/jib.428>
 29. Tuszyński T., Makarewicz M. (1998). Drożdże dzikie w przemyśle piwowarskim-zagrożenia i wybrane metody wykrywania. *Żywność. Technologia. Jakość* 3 (16), 43-57
 30. Vaughan A., O'Sullivan T., Van Sinderen D. (2005). Enhancing the Microbiological Stability of Malt and Beer - A Review. *The Institute of Brewing & Distilling* 111(4), 355-371, DOI: 10.1002/j.2050-0416.2005.tb00221.x
 31. Willaert R. (2007). The beer brewing process: wort production and beer fermentation.. w: *Handbook of Food Products Manufacturing* Y. H. Hui, 443 - 506. DOI: 10.1002/9780470113554.ch20

32. Żyrek E. (2008). Zagrożenia mikrobiologiczne przy „aseptycznym” rozlewie piwa – przyczyny infekcji na rynku, zapobieganie. *Agro Przemysł* 6/2008, 23-28
33. Quain D.E. (2021). The enhanced susceptibility of alcohol-free and low alcohol beers to microbiological spoilage: implications for draught dispense. *Journal of the Institute of Brewing* 127:406–416, DOI: 10.1002/jib.670
34. Thesseling F.A., Bircham P.W., Mertens S, Voordeckers K., Verstrepen K.J. (2019). A hands-on guide to brewing and analyzing beer in the laboratory. *Current Protocols in Microbiology* 54,e91. DOI: 10.1002/cpmc.91

AN OVERVIEW OF THE MOLECULAR MECHANISMS LEVERAGED IN THE LACTIC ACID BACTERIA STRESS RESPONSE

Joanna Bucka-Kolendo, Barbara Sokołowska

Prof. Waław Dąbrowski Institute of Agricultural and Food Biotechnology
State Research Institute
Department of Microbiology
36 Rakowiecka Str., 02-532 Warsaw, Poland

joanna.bucka@ibprs.pl

Received: 22 November 2023

Revised: 19 December 2023

Accepted: 4 January 2024

Summary

Lactic acid bacteria (LAB) constitute a significant group of microorganisms in the food industry. Their philological and genetic conditions make them widely used in biotechnology, but they may also constitute an undesirable/spoiling microbiota of the product. The different environmental conditions in which LABs are able to grow means that they must have protective mechanisms to respond to the stress caused by these changes. The molecular background of the stress reaction to some stress factors, like temperature, pH, and oxygen, is well known. However, a few factors still need to be studied since they do not occur in the bacteria's natural environment, e.g., high hydrostatic pressure (HHP). It is knowable to understand how bacteria manage different stress factors, as they are a widespread group of microorganisms. Growing consumer demands and awareness create pressure to use all available omics tools to study and analyze bacteria. This work aimed to gather information on how the molecular mechanisms leverage in the stress response in LABs.

Keywords: lactic acid bacteria, LAB, stress response

PRZEGLĄD MECHANIZMÓW MOLEKULARNYCH WYKORZYSTYWANYCH W ODPOWIEDZI NA STRES PRZEZ BAKTERIE KWASU MLEKOWEGO

Streszczenie

Bakterie kwasu mlekowego (LAB) stanowią znaczącą grupę mikroorganizmów w przemyśle spożywczym. Ich uwarunkowania filologiczne i genetyczne powodują, że są szeroko stosowane w biotechnologii, ale mogą też stanowić niepożądaną/szkodzącą mikroflorę produktów. Możliwość wzrostu w różnych warunkach środowiskowych świadczy

o obecności mechanizmów ochronnych, aby reagować na stres powodowany tymi zmianami. Molekularne podłoże reakcji stresowej na niektóre czynniki stresowe, jak np. temperatura, pH i tlen są dobrze poznane. Jednakże kilka czynników wymaga jeszcze zbadania, ponieważ nie występują one w naturalnym środowisku bakterii, np. wysokie ciśnienie hydrostatyczne (HHP). Ponieważ HHP jest coraz bardziej popularną techniką utrwalania w przemyśle spożywczym, warto zrozumieć, w jaki sposób bakterie radzą sobie z tym czynnikiem stresowym. Rosnące wymagania i świadomość konsumentów wywierają presję, aby wykorzystywać wszystkie dostępne narzędzia -omiczne do badania i analizowania bakterii. Celem tej pracy było zebranie informacji na temat wpływu mechanizmów molekularnych na reakcję LAB na stres.

Słowa kluczowe: bakterie kwasu mlekowego, LAB, reakcja na stres

INTRODUCTION

Lactic acid bacteria (LAB) are among the best-studied microorganisms due to their use in food production and medicine. Over the past 30-40 years, LAB's physiology, biochemistry, genetics, and evolution have interested scientists worldwide [Papadimitriou et al., 2016]. Initially, LAB taxonomy was based on morphological and physiological characteristics. They are Gram-positive, non-spore-forming, microaerophilic, or anaerobic bacteria that produce lactic acid as the primary end product of sugar fermentation, lack catalase and cytochromes, and tolerate oxygen and acids. LABs generally have a low GC content (50 mol%), however, some lactobacilli reach up to 57 mol% [Sun et al., 2015]. Among LABs, the genera most commonly associated with food are *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Streptococcus*, *Enterococcus*, *Pediococcus*, *Leuconostoc*, *Oenococcus*, *Tetragenococcus*, *Carnobacterium*, and *Weissella*. While LABs are believed to be a heterogeneous group of bacteria, and there may not be a universal definition for them, all of the aforementioned genera have been shown to have diverged from a common ancestor. LAB bacteria are able to create a bacteriostatic and even bactericidal environment for spoilage and pathogenic bacteria by lowering the pH of the matrix during lactic fermentation. In combination with appropriate technological processes, lactic fermentation creates safe food products with an extended shelf life. They play a crucial role in developing the organoleptic properties of fermented products through their metabolic activity (e.g., lipolysis and proteolysis), producing important aroma and flavor compounds (acetoin, diacetyl). They can also contribute to changes in the texture of food products (e.g., through the production of exopolysaccharides – EPS [Papadimitriou et al., 2016]. Long-term

LAB evolution, adaptation to different environments, and consequent changes in genomes and metabolic pathways have resulted in auxotrophic LAB strains that have lost various biosynthetic pathways.

On the other hand, acquiring genes allows for obtaining important technological properties [Makarova et al., 2006]. Constant pressure from consumers for high-quality products has led to today's strains. However, not all LABs are associated with food fermentation, even a superficial study of LAB taxonomy reveals that several species are commensals and pathogens. This fact was only reflected a few times in the literature. Food microbiology and technology often focus on beneficial LABs, leaving pathogenic LABs, regardless of their underlying phylogenetic relationships. Probiotic LAB strains may be derived from fermented foods or may be commensals. Nevertheless, several dangerous opportunistic pathogenic LABs, i.e., commensals, can become virulent under the right conditions. Such species occur mainly in *Streptococcus* and *Enterococcus* genera [Fischetti et al., 2006]. At the same time, some LABs can produce diacetyl in drinks and juices, which gives these products a bitter taste and aroma [Bucka-Kolendo et al., 2017]. *Leuconostoc mesenteroides* and *Weissella confusa* bacteria can synthesize compounds that make the final product ductile, such as beer. In alcoholic beverages, it can affect the bitter taste by converting glycerol to 3-hydroxypropionaldehyde, which can be converted to acrolein and bind with polyphenols to form bitter compounds [Garai-Ibabe et al., 2008; Juvonen et al., 2011; Sauvageot et al., 2000].

Food physical preservation methods

Physical food preservation techniques are used to reduce or prevent the development of undesirable microbiota in products [Juvonen et al., 2011]. Traditional preventive methods used in the beverage industry include heat treatment and filtration. Heat treatment is the most efficient food preservation technique. It can prevent not only the growth of undesirable microbiota but also suppress undesirable enzymatic activity. Processes using high temperatures destroy many bioactive and aromatic compounds, resulting in taste, color, and nutritional value modification. Growing consumer demand for "fresh" food challenges food preservation techniques. Some preservation techniques, like pressurization, are increasingly used because they can reduce the number of microorganisms in liquid food products, such as beverages, juices, and alcoholic beverages - beer, wine, or cider [Bucka-Kolendo et al., 2017]. Many factors affecting bacteria during the fixation process can be potential stress effectors to them. As a result, some proteins are induced, and several of them are also involved in various

types of stress responses, including cross-protection [Serrazanetti et al., 2009; Rendueles et al., 2011]. They can cause changes in bacteria, physiological [Wouters et al., 1998; Korakli et al., 2002], gene expression [Welch et al., 1993; Drews et al., 2002; Wemekamp-Kamphuis et al., 2002] and protein transcription, and can lead to cell damage [Ehrmann et al., 2001] and death [Ulmer et al., 2002; Vogel et al., 2005]. LAB bacteria in natural environments are not exposed to all types of stresses, such as HHP, therefore, a response to those factors cannot be expected [Serrazanetti et al., 2013]. The cross-protection system can explain the ability of bacteria to respond to pressurization against various stress factors [Vogel et al., 2005; Serrazanetti et al., 2013; Bucka-Kolendo et al., 2017]. LAB's cross-protection response to pressurization still needs to be well documented in the literature. In *Lactiplantibacillus plantarum*, a higher sensitivity to pressure was observed when heat shock was applied. As Sokołowska *et al.* [Sokołowska et al., 2020] show, LAB belongs to organisms resistant to HHP, and they can be used as taxonomic organisms to assess the durability of products preserved with these methods [Sokolowska et al., 2012].

Molecular identification techniques of LAB

Knowledge about LABs has been revolutionized with genome sequencing, and, in recent years, the development of meta-omics sciences allows monitoring their behavior in complex environments and complexes of microorganisms. The 16S rRNA gene and the whole genome phylogeny revealed that the "core" LAB species form a separate branch of *Lactobacillales* in the *Bacilli* class of the *Firmicutes* phylum [Stiles et al., 1997; Klein et al., 1998; Makarova et al., 2006; Mathias et al., 2013; Papadimitriou et al., 2016]. Since 1983, 16S rRNA gene similarity has been used as the basis for classification and nomenclature in bacterial taxonomy.

In 2020, Zheng *et al.*, in their work [Zheng et al., 2020] reassessed species' genetic relationship and phylogeny within the current genus *Lactobacillus* and its related taxa *Lactobacillaceae* and *Leuconostocaceae*. In the proposed re-classification, the average nucleotide identity (ANI), average amino acid identity (AAI), core-genome average amino acid identity (cAAI), core genome phylogeny, signature genes, and metabolic or ecological criteria were taken into account. The identity of the 16S rRNA gene sequences and AAI values allowed the new species to be easily assigned to one of the 26 *Lactobacillaceae* genera. Species that share a 16S rRNA gene identity greater than 94.5% with the typical genus and are integral to that genus using 16S rRNA gene phylogeny are generally assigned correctly, even without further analysis. However, gene identity and 16S rRNA phylogeny should be

complemented by core genome phylogeny in conjunction with genome-wide similarity analysis to confirm genus-level taxonomy. Using constitutive genes has become an alternative to overcome these problems [Santos et al., 2004; Naser et al., 2007; Zheng et al., 2020; Qiao et al., 2022]. In silico studies based on complete genomes have provided the basis for creating constitutive gene sets that can accurately predict genome relatedness and improve the accuracy of species identification. The need for alternative genomic markers that provide a higher level of discrimination than the 16S rRNA gene has led to more systematic sequencing and identification of closely related species.

Since marker genes should provide information with appropriate confidence and ensure sufficient variability for species differentiation within a given genus, they must be present in a single copy, evolve faster than rRNA genes, and be widely distributed among bacterial genomes [Stackebrandt et al., 2002]. One such alternative to sequencing the 16S gene is to analyze the *pheS* gene, which encodes the alpha subunit of phenylalanyl-tRNA synthase (Phe-tRNA). Sequence analysis of the *pheS* gene is considered a reliable discriminant method [Naser et al., 2005; Chao et al., 2012; Bucka-Kolendo & Sokołowska, 2021] and is currently a commonly used tool for identifying LAB bacteria. In addition, in recent years, Whole Genome Sequencing (WGS) has become widely available, and average nucleotide identities of genes shared by two bacterial genomes have been introduced as the gold standard for identifying new bacterial species [Zheng et al., 2020; Qiao et al., 2022; Bucka-Kolendo et al., 2023; Kiouisi et al., 2023].

Proteomic techniques for LAB identification

The idea of classifying and identifying bacteria by mass spectrometry (MS) with Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Time of Flight Mass Spectrometry (MALDI-TOF) analysis for the analysis of large biomolecules was a breakthrough in the study of complex biological systems, such as bacterial cells [Sánchez-Juanes et al., 2020]. Due to the success in medical diagnostics, the introduction of MALDI-TOF MS is considered a “progressive revolution in bacteriology” [Schumann et al., 2014]. This allowed for the broad application of MALDI-TOF MS in the quality control of food production and in the pharmaceutical and biotechnology industries, as well as in ecological and environmental research and systematics [Akimowicz et al., 2020]. This technique provides visibly identifiable spectra of molecular ions in intact cells of macromolecules. MALDI-TOF mass spectra of bacteria have the most significant taxonomic relevance and re-reproducibility when ribosomal protein peaks dominate them. The analysis of the “finger-print” of ribosomal proteins, characteristic for a given

family, genus, species, and even for individual strains, enables the identification of mass spectral profiles of the tested strains by comparing them with a library containing reference spectra [Seng et al., 2009]. Limitations in the identification of MALDI-TOF MS of closely related species, as in the case of LAB, may result from the lack of reference mass spectra in the database belonging to the instrument, from technical errors during sample preparation for analysis or from different culture conditions that may affect the result analysis [Stackebrandt et al., 2002; Bucka-Kolendo et al., 2020; Bucka-Kolendo et al., 2023]. Spectra quality, reproducibility, and mass accuracy must be much higher for strain differentiation than for species-level identification. The differentiation and taxonomic identification of well-defined bacterial species is undoubtedly the strength of MALDI-TOF MS, compared to the performance of 16S rRNA gene sequence analysis. However, deviation from optimal culture conditions can form stress proteins that may dominate the mass spectra. Such a limitation can be a significant obstacle in correctly identifying microorganisms, especially new ones not present in a given database [Seng et al., 2009]. Furthermore, changing the growth parameters may result in the disappearance of strain-specific mass spectral differences so that individual strains cannot be recognized [Akimowicz et al., 2020; Sánchez-Juanes et al., 2020].

The physiology of the LAB response to stress

Like other microorganisms, LABs are exposed to stressful conditions, both abiotic and biotic [Papadimitriou et al., 2016]. Biotic stresses occur within the host or in complex ecosystems. On the other hand, abiotic stresses mainly arise during food production and creating starter or probiotic cultures. Several experimental approaches have been adopted over the years to study the physiology of bacterial stress. In practice, stress is defined as a condition that causes reduced growth or survival of bacterial cells (Fig.1). Growth and survival tests require the optimal conditions to be used as controls for comparison in advance. It is believed that stress is any transition of a bacterial cell from one state to another that causes changes in the genome, transcriptome, proteome, and/or metabolome of the cell, leading to a decrease in the potential for growth or survival [Rezzonico et al., 2010]. Under stress, cells adapt through appropriate molecular responses in an attempt to mitigate the negative effects and restore the potential for growth or survival. While adaptation is a general term to describe an organism's effort to resist and survive stress, it is also associated with a specific experimental set-up where cells are temporarily exposed to mild, non-lethal stress conditions that result in increased survival. This adaptive response is most often triggered quickly, within the first minutes or hours of exposure to mild stress. There are two primary

varieties of this type of experiment. First, cells can be left in suboptimal conditions much longer than necessary to induce adaptation. This type is best described as habituation, a term rarely used for LAB [Booth 2002; Papadimitriou et al., 2016]. The molecular mechanisms underlying transient adaptation and habituation to particular stress may overlap to some extent but are somewhat different. This may explain the conflicting results obtained for some LAB species, as the two responses were sometimes considered identical.

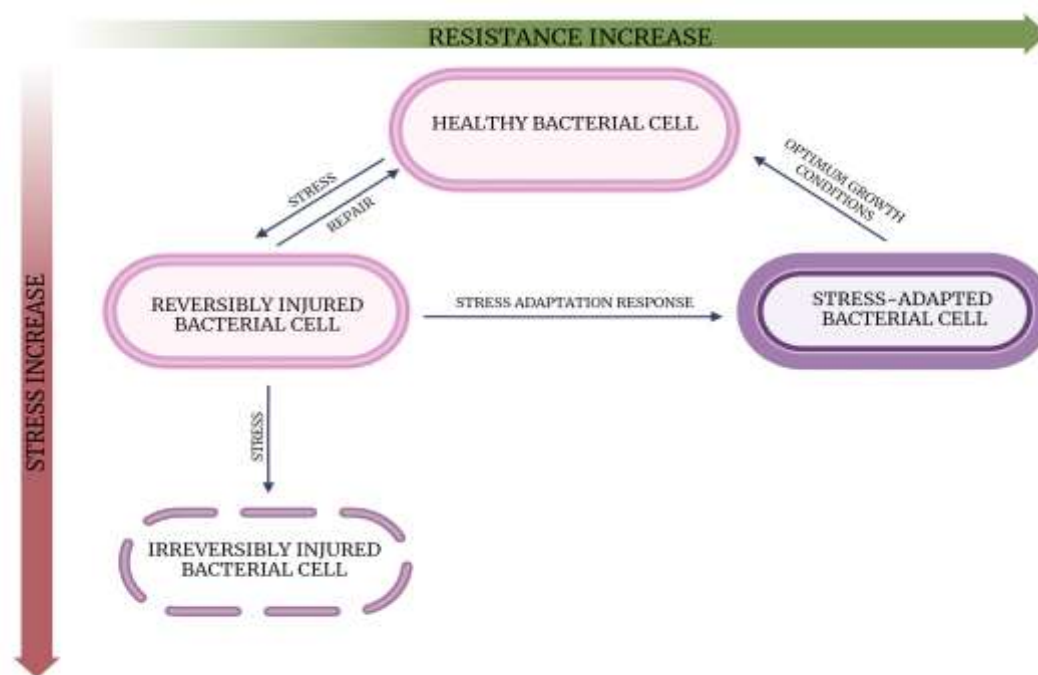


Figure 1. Schematic overview of possible reactions of bacteria to stress (adapted based on the Lado et al., 2002).

Schematyczny przegląd możliwych reakcji bakterii na stres (na podstawie Lado i in., 2002).

Alternatively, cells are transiently stress-adapted, and the lethal challenge is performed with a different stress factor. Doing so often increases survivability, a phenomenon known as cross-protection. The specific combination of two stresses that leads to cross-protection depends on the species and subspecies. Cross-protection suggests the induction of molecular mechanisms during exposure to the first stressor that protects cells from the next lethal challenge. It may be essential for LABs, as they are often exposed sequentially to different stressors [Bucka-Kolendo et al., 2017]. There are also phenotypes showing generalized resistance to multiple stresses simultaneously. One such phenotype is observed when cells enter the stationary phase. Cells enter the stationary phase due to nutrient depletion and/or accumulation of toxic waste products in their environment during growth. The environmental conditions of the stationary phase become so stressful that cell death is accelerated [Booth

2002; Papadimitriou et al., 2007]. The transition from the exponential phase to the stationary phase is accompanied by the induction of many regulons, resulting in the ability to handle many other stresses. This phenotype increases the likelihood of survival until growth conditions are restored and is particularly important for LAB, which, unlike other Gram-positive bacteria, cannot form spores. Another phenotype of resistance to several cellular stressors is biofilm formation [Papadimitriou et al., 2016]. Some species of bacteria are naturally prone to biofilm formation, but the formation of these structures can also result from stress. Biofilms are essential for all types of LAB, including food-related, probiotic, commensals, and pathogens. Some bacteria are viable but non-culturable during the stationary phase, biofilm formation, and other stressful conditions (VBNC) [Papadimitriou et al., 2016]. In this physiological state, cells are metabolically active and resistant to many stresses but do not have the ability to proliferate. VBNC cells can regenerate under certain conditions or in the presence of specific molecules. Transition in VBNC is considered an adaptive strategy for long-term survival [Renyne et al., 2004].

There are several studies on the status of VBNC in LAB [Papadimitriou et al., 2016; Liu et al., 2018]. However, since injured and VBNC cells may have similar phenotypes, it is still being determined whether LAB exhibits an adaptive response as VBNC. At the same time, persistent cells are subpopulations of cells that are resistant to multiple antibiotics. Unlike resistant cells, which can grow in the presence of antibiotics, persistent cells can resist lethal doses without growth. It has recently been suggested that the VBNC state uses dormancy as the primary mode of stress resistance. The development and philology of rest in LAB must be better understood and deserve further research.

In most studies on the physiology of LAB stress, strains are subjected to only one stress factor to analyze better the philological and molecular mechanisms underlying the response [Booth 2002; Papadimitriou et al., 2016]. However, LAB resides mainly in multi-stress environments and may have a cross-response to stress. These adaptive or stress responses are the main focus of LAB stress physiology research. Bacteria constantly monitor changes in their environment and react when necessary. Stress responses have been correlated with specific phenotypes so that they can be induced in a controlled and reproducible way. The most common phenotype in the literature is the adopted cell [Papadimitriou et al., 2016; Liu et al., 2018]. Research conducted on LAB reactions to various stress conditions is important for various reasons. One of the most important aspects is their food processing and storage durability. Susceptibility to changes in technological conditions can have a severe impact on food quality and safety.

Stress response mechanisms

Bacterial adaptive responses are mainly based on epigenetic mechanisms, as the regrowth of adapted cells under optimal conditions abolishes any resistance phenotype [Papadimitriou et al., 2016]. While resistance may take several generations to wear off, population fitness eventually returns to baseline levels. Stress-induced mutations can also occur in bacteria; cells exposed to particular stresses can enter a state of high variability, thereby increasing the diversity of the clonal population, leading to new genotypes that can survive under conditions that would otherwise be detrimental to the wild type [Li et al., 2014]. Increased mutation rates can be achieved by error-prone DNA polymerases, transcription and/or translation errors, and activation of mobilizable elements. There is some evidence that adaptive mutations occur in LAB as a response to specific stresses [Galhardo et al., 2007; Varhimo et al., 2007]. Whether epigenetic or not, adaptive responses are the ultimate means of ensuring bacterial survival under stress. Compelling evidence suggests that such responses are not inert but have a certain degree of plasticity. Several studies show that different stress-resistant phenotypes may protect against the same stress-inducing factor, even though the molecular mechanisms may differ slightly or significantly [Booth 2002; Machielsen et al., 2010]. In addition, cells can use multiple and overlapping resistance mechanisms to prevent or repair damage and stay alive. Although studies indicate that the molecular mechanisms of the adaptive stress response may be species- and even strain-specific [Stackebrandt et al., 2002], some phenotypes are believed to depend on the gene expression level, not on their presence or absence.

Determining how it survives is the primary problem in studying bacterial stress's physiology. Cells are defined as viable or dead depending on whether they are capable of proliferating in a particular medium and under certain conditions. Only culturable cells can be accurately counted from growth, while the number of dead cells can be inferred indirectly from the untreated control population. However, there is at least one additional physiological state after exposing a cell population to stress, namely the "damaged" cell state [Martín-Galiano et al., 2005]. Damaged cells are metabolically active but have been damaged to the degree that causes a temporary or even permanent loss of proliferative capacity [Booth 2002; Papadimitriou et al., 2016]. Sometimes, they require longer repair times or may only repair under specific conditions. Damaged cells can be considered VBNCs but do not result from an adaptive response. Protein quality control, including refolding or degradation of damaged proteins, plays an essential role both under and without stress [Booth, 2002; Li et al., 2014]. Cellular proteins are constantly being modified to meet the challenges posed by environmental changes. Chaperones and proteases are rapidly synthesized under stress

conditions and used to combat the potentially harmful aggregation of denatured proteins [Papadimitriou et al., 2016]. Whereas chaperones protect functional proteins and refold misfolded ones, proteases provide a last line of defense by removing irreversibly damaged proteins, after which the amino acids are reused. Under changing conditions, proteolysis also removes functional proteins for regulatory purposes or because they are no longer needed.

Regulation of stress response

Bacteria use various mechanisms to monitor the intracellular and extracellular environment and regulate cell physiology to cope with environmental changes [Bucka-Kolendo et al., 2017]. Therefore, explaining bacterial development's structure, function, and dynamics in their natural environment and under various types of stress is one of the most significant challenges [Müller et al., 2010]. However, LAB's response to some of the stress types, such as HHP, is more challenging to identify than other stressors [Bucka-Kolendo et al., 2021] because their ability to respond comes from a cross-protection system [Bucka-Kolendo et al., 2017]. Where cross-protection in LAB has been described as exposure to a single stress factor commonly associated with cross-tolerance to other stressors such as acid, heat, etc., adaptation may be much more critical in improving bacterial function under suboptimal conditions [Mbye et al., 2020]. Thus, further research is needed to determine how much is species/strain specific and how/whether specificity correlates with stress tolerance in LAB strains. In addition, differentiated expressions of genes involved in the stress response may result in changes at the phenotypic level [Koch et al., 1998; Papadimitriou et al., 2016; Daranas et al., 2018]. Although the genes correlated with the stress response in LAB are highly conserved, including the highly conserved class I regulon [Bucka-Kolendo et al., 2017; Palud et al., 2018], stress response mechanisms are not conserved, indicating that environmental conditions affect the stress response. Therefore, understanding the complexity of stress-related gene regulation networks and adapting LAB strains to harsh environmental conditions is essential for improving industrial strategies using LAB strains.

Signal transduction systems can be broadly divided into two main categories: One-Component Systems (OCS) and Two-Component Systems (TCS), and has been presented in Figure 2 [Guidone et al., 2015]. In a single-component system (OCS), the functions are located in the same polypeptide, while in a two-component system (TCS), they are located on separate polypeptides. In addition, other molecules, such as nucleic acids and lipids, can also act as sensors. Some of them, mainly RNA molecules, can elicit a response themselves, while others transmit signals to neighboring proteins that transmit them or elicit a response. Other

data suggest that stress factors such as sigma σ factors, responsible for the stress response in many Gram-positive and Gram-negative bacteria, are irrelevant in LAB. The most striking difference is the absence of the sigma σ factor, while several stress proteins such as DnaK, GroEL, Clp, etc., and their regulators HrcA and CtsR are retained.

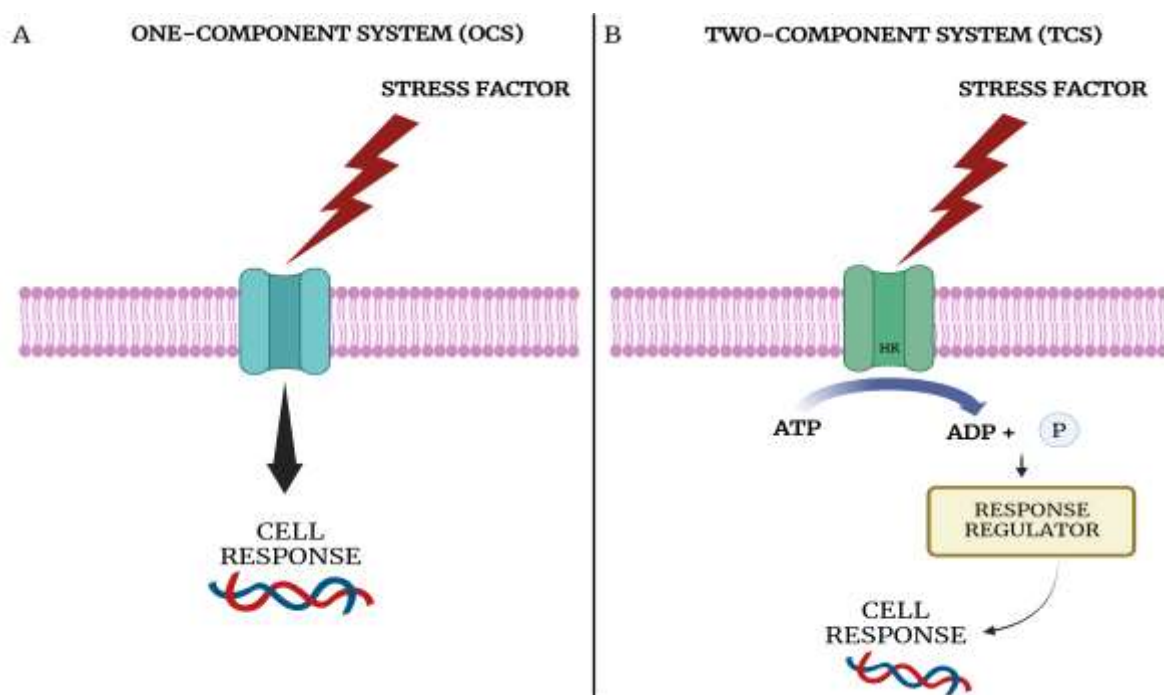


Figure 2. Schematic OCS and TCS in Gram-positive bacteria.
Schemat OCS i TCS u bakterii Gram-dodatnich.

The regulation of heat stress response genes in Gram-positive bacteria has been described as dependent on HrcA or CtsR [Bucka-Kolendo et al., 2017]. These data are still valid for *Bacillus subtilis* and the closely related *Clostridium perfringens* or *Listeria monocytogenes* [Chastanet et al., 2003; Ulrich et al., 2005]. Depending on the type of regulation, genes are classified into six groups [Müller et al., 2010; Bucka-Kolendo et al., 2017]. Initially, the LAB response mechanism to stress conditions was compared with the well-documented model species *B. subtilis* and *E. coli*. The best-known stress response mechanisms are found in *B. subtilis* species, where, as demonstrated by Castaldo *et al.* [Castaldo et al., 2006], over 200 genes are expressed at high temperatures. Ricciardi *et al.* [Ricciardi et al., 2012] demonstrated the regulation of stress response genes belonging to Class I and Class III, which differed in *Lactiplantibacillus plantarum* from the model organism of Gram-positive bacteria *B. subtilis*. It turned out that there are some differences in the mechanisms.

The One-Component Regulatory System (OCS) regulates LAB's stress response. Classes I and III are controlled by two types of transcriptional repressors: HrcA and CtsR. The first

class of heat shock genes includes *dnaK* and *groEL* operons and encode proteins belonging to two chaperone complexes, DnaK-GrpE-DnaJ and GroES-GroEL, respectively [Chastanet et al., 2003; Serrazanetti et al., 2013]. The induction of these genes correlates with osmotic, starvation, temperature, acid, ethanol, and cold stress. In the promoter regions of the *groE* and *dnaK* operons, which encode the two chaperon complexes GroES-GroEL and HrcA-DnaK-GrpE-DnaJ, a highly conserved Controlling Inverted Repeat for Chaperon Expression (CIRCE) was found that binds the HrcA repressor [Müller et al., 2010; Ricciardi et al., 2012]. The HrcA and CtsR operons are regulated by the HrcA repressor protein, which binds to the CIRCE operator under stress-free conditions. *hrcA* is located in the *dnaK* operon, and its expression is controlled by self-repression. In some LABs, CIRCE sequences were found to be upstream of *hrcA-grpE-dnaK* [Zuber et al., 1994], and mRNA analysis showed rapid induction levels after heat shock [Daranas et al., 2018; Zuber et al., 1994]. Studies on *dnaK* mutants have suggested that induction by a stress factor (low pH) may be mediated by the heat shock regulators HrcA and CtsR [Zuber et al., 1994]. In the *dnaK* mutant of *L. paracasei*, stress sensitivity correlates with the upregulation of the gene [Koch et al., 1998]. Genes encoding heat shock proteins and class I repressor genes - HrcA are used for taxonomic purposes in several species, including *Lactobacillus* [Bucka-Kolendo et al., 2017].

The expression of class II genes depends on the sigma σ B factor, the synthesis and activity of which increases under the influence of various stress factors [Bucka-Kolendo et al., 2017]. In LAB, class III genes (regulated by the CtsR repressor) are less conserved. It has been suggested that CtsR is a general transcriptional repressor involved in regulating heat shock [Van De Guchte et al., 2002; Daranas et al., 2018]. In Gram-positive bacteria, it is considered the primary regulator of cellular protein quality and is responsible for controlling the expression of genes involved in proteostasis. The class III heat shock repressor CtsR binds directly to a specific repeated sequence (CtsR Box: a/ggtcaaaNaNa/ggtcaaa) [Bucka-Kolendo et al., 2017]. This sequence has been found in other Gram-positive bacteria, such as *Listeria monocytogenes*, *Streptococcus salivarius*, *Streptococcus pneumonia*, *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus thermophilus*, *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*, *Leuconostoc oenos*, *Latilactobacillus sakei*, *Lactiplantibacillus lactis*, *Clostridium*.

In microorganisms, the stress response combines various transcriptional mechanisms that overlap and lead to complex regulatory networks. In this context, cross-regulation between the CtsR and HrcA regulons plays a key role and is essential in the cross-protection mechanisms in LABs exposed to harsh environmental factors. Vogel *et al.* [Vogel et al.,

2005] found that lacking an alternative sigma factor in LAB may allow bacteria to adapt to different stresses in different environments.

The mechanisms of class IV transcription activator need to be better documented.

Class V genes are regulated by a two-component signal transduction system (TCS), as the regulation of class VI is still unknown [Bucka-Kolendo et al., 2017].

The example of stress-related genes and their functions are presented in Table 1.

Table 1. The most common stress factors and molecular mechanisms involved in the reaction in lactobacilli

Najczęstsze czynniki stresowe i mechanizmy molekularne biorące udział w reakcji u lactobacilli

Stress type	Gene	Gene function	References
Acid stress resistance	<i>atpB</i> <i>napA</i> <i>copZ</i> <i>nikB</i> <i>ddc</i> <i>arcB</i> <i>arc</i> <i>dnaK</i> <i>grpE</i> <i>hrcA</i> <i>pspC</i> <i>uvrA</i>	F0F1-ATP synthase Na(+)/H(+) antiporter Copper chaperone Nickel transport system permease protein L-2,4-diaminobutyrate decarboxylase Ornithine carbamoyltransferase Carbamate kinase Chaperone protein GrpE protein (hsp-70 cofactor hsp20) Heat-inducible transcription repressor Polymorphic protein Excinuclease abc subunit a	Sean et al., 2014, Bucka-Kolendo et al., 2017
Bile stress	<i>Cbsh</i>	Conjugated bile salt hydrolase	Sean et al., 2014
Starvation	<i>cstA</i> <i>PsiE</i> <i>yugI</i>	Starvation protein a Phosphate starvation-inducible protein General stress-like protein	Sean et al., 2014
Heat shock	<i>HtpX</i> <i>Hsp33</i> <i>Hsp10</i> <i>htrA</i> <i>ftsH</i> <i>hrcA</i>	Cytoplasmic membrane metalloprotease Heat shock protein 33 10 kDa chaperonin heat shock protein High temperature requirement protein A Proteases FtsH Heat-inducible transcription repressor	Sean et al., 2014
Cold stress	<i>CheY</i>	Cold stress response involved in chemotaxis	Sean et al., 2014
Osmotic stress	<i>Dps</i> <i>infA</i> <i>PepX</i>	DNA-binding ferritin-like protein Protein chain initiation factor X-prolyl dipeptidyl aminopeptidase	Sean et al., 2014
Oxidative stress	<i>dps1</i> <i>gshR</i> <i>dsbA</i> <i>katA</i> <i>KatE2</i> <i>uvrA</i> <i>orf01,513</i> <i>orf00,076</i> <i>orf01,790</i> <i>orf00,102</i> <i>orf00,146</i> <i>orf00,594</i> <i>orf00,178</i>	DNA protection protein NAD9P)/FAD-dependent oxidoreductase DsbA family oxidoreductase Catalase Heme-dependent catalase UvrA Glutathione reductase NADH oxidase NADH-dependent flavin reductase NADH-dependent oxidoreductase NADH-dehydrogenase NADH-flavin reductase	Kong et al., 2020

High hydrostatic pressure	<i>hrcA</i> <i>dnaK</i> <i>ctsR</i> <i>GroEl</i> <i>ClpL</i> <i>ClpP</i> <i>gryA</i> <i>Rrf</i> <i>ftsH</i>	Heat-inducible transcription repressor Chaperone protein Regulator protein Translation of chaperones Translation of chaperones Protease Proteins HSP60 Ribosome recycling factor Proteases FtsH	Guidone et al., 2014, Bucka-Kolendo et al., 2017, Bucka-Kolendo et al., 2021, Bucka-Kolendo et al., 2022
---------------------------	---	---	--

SNP single nucleotide polymorphism in stress-related genes

Intraspecific phenotypic variability of bacteria can be attributed to Single Nucleotide Polymorphisms (SNPs), i.e., single base changes occurring with a frequency of more than 1% in a given population [Roncarati et al., 2017]. SNPs can occur throughout genomes in coding regions and outside coding sequences. SNPs outside the coding regions may be present in intergene sequences, untranslated regions, intronic regions, or related corresponding coding regions such as promoter sequences and transcription factor binding sites. Two groups can be distinguished among the changes occurring within the coding region: synonymous (SS - Synonymous Substitutions) and non-synonymous (NSS - Non-Synonymous Substitutions). An SNP in a coding region that causes a change in the transcribed codon to incorporate a different polypeptide is termed an NSS mutation. On the other hand, SS mutations do not change the protein's amino acid sequence. Thus, their effect on adapting to changes results from changes in transcription and translation processes that determine gene expression [Hunt et al., 2009; Bucka-Kolendo et al., 2022]. The effects of changes resulting from SS are often as variable as those resulting from NSS, and they can be both detrimental to the cell and beneficial. Synonymous mutations can have an enormous impact on fitness and make a significant contribution to adaptive capacity. The effects of adaptation can vary greatly depending on the different types of genes and organisms in which they occur, but they cannot be ignored. There is increasing evidence that synonymous mutations influence fitness through adaptive evolution through the effect of SS on gene expression and protein folding. Many studies report on the impact of SS on the adaptation process in the studied populations, but they usually do not occur with high frequency. In the literature, codon error is the most frequently given explanation for matching synonymous mutations. If SS results in new codons better matched to more highly expressed genes in other parts of the genome, this may increase fitness. A probable explanation for this may be a larger pool of available tRNAs and, thus, a lower cost of protein production by the cell. Various research has shown that introducing rarer or more common codons than highly expressed genes can reduce fitness [Hunt et al.,

2009; Agashe et al., 2013; Bailey et al., 2021]. This suggests that codon usage may be subject to stabilizing selection. These studies have also shown that codon changes resulting from single synonymous mutations rarely affect efficiency. Furthermore, the results suggest that a codon sequence error is unlikely to be an adaptive factor for synonymous substitutions in the short term [Hunt et al., 2009; Fuller et al., 2014; Lebeuf-Taylor et al., 2019]. SS mutations can affect translation rate and fidelity by altering mRNA transcripts' secondary structure. The reduced thermodynamic stability of the mRNA may make the transcript more accessible to the ribosome during translation, leading to faster translation and high fit [Hunt et al., 2009].

Unraveling the diverse ways SS can influence fitness is an integral part of research into stress response mechanisms. SS mutations are rarely recovered from short-term experiments in novel or stressful environments. The initial stages of adaptation are often driven by genetic changes such as loss-of-function mutations and gene amplification that do not require synonymous mutations. A better study of long-term adaptive responses may provide evidence of an increasing proportion of synonymous mutations contributing to adaptation over time. Using environmental changes, such as HHP, to modulate the distribution of adaptation effects and the adaptation effects of synonymous and non-synonymous mutations may be necessary for determining which changes contribute to adaptation [Kudla et al., 2009]. Studies have shown that SS in one part of the gene may imply matches of later SS mutations in another gene region [Hunt et al., 2009; Fuller et al., 2014]. At the same time, mutations in one gene have been observed to affect the expression of other neighboring genes [Hunt et al., 2009; Fuller et al., 2014; Bucka-Kolendo et al., 2022], suggesting that one should not focus on just one gene. In the case of bacteria, where genes are often grouped into operons and transcribed together, determining how mutations affect the entire transcription unit may bring us closer to identifying the mechanisms responsible for the matching effects of synonymous mutations affecting adaptation.

Still, little is known about how stress-related factors affect LAB's fitness and potential mutations [Bucka-Kolendo et al., 2022]. Future work needs to focus on finding the effects of synonymous mutations with fitness effects in different gene regions (functional domains, operon localization) to determine patterns of SS alignment effects in populations. In addition, the results of analyses of LAB strains and species using whole genome analyses will provide a better understanding of the overall impact of SS mutations in adaptive evolution.

Overall, a closer investigation of the molecular mechanisms leveraged by LAB in response to different stress factors and how they manifest in the bacteria is needed.

REFERENCES

1. Agashe D., Martinez-Gomez N.C., Drummond D.A., Marx C.J. (2013). Good codons, bad transcript: Large reductions in gene expression and fitness arising from synonymous mutations in a key enzyme. *Molecular Biology and Evolution*, (Vol. 30, No. 3), 549–560. doi: 10.1093/molbev/mss273
2. Akimowicz M., Bucka-Kolendo J. (2020). MALDI-TOF MS-Application in food microbiology. *Acta Biochimica Polonica*, (Vol. 67, No. 3). doi: 10.18388/ABP.2020_5380
3. Bailey S.F., Morales L.A.A., Kassen R. (2021). Effects of Synonymous Mutations beyond Codon Bias: The Evidence for Adaptive Synonymous Substitutions from Microbial Evolution Experiments. *Genome Biology and Evolution*, (Vol. 13, No. 9). doi: 10.1093/gbe/evab141
4. Booth I.R. (2002). Stress and the single cell: Intrapopulation diversity is a mechanism to ensure survival upon exposure to stress. *Int J Food Microbiol.* (Vol. 15, No. 78(1-2)), 19-30. doi: 10.1016/s0168-1605(02)00239-8.
5. Bucka-Kolendo J., Juszczuk-Kubiak E., Sokołowska B. (2021). Effect of high hydrostatic pressure on stress-related *dnaK*, *hrcA*, and *ctsR* expression patterns in selected lactobacilli strains. *Genes*, (Vol. 12, No. 11). doi: 10.3390/genes12111720
6. Bucka-Kolendo J., Sokołowska B. (2017). Lactic acid bacteria stress response to preservation processes in the beverage and juice industry. *Acta Biochimica Polonica*, (Vol. 64, No. 3). doi: 10.18388/abp.2017_1496
7. Bucka-Kolendo J., Sokołowska B. (2021). Comparison of lactobacillus identification methods. *Zywnosc. Nauka. Technologia. Jakosc/Food. Science Technology. Quality*, (Vol. 28, No. 2). doi: 10.15193/zntj/2021/127/377
8. Bucka-Kolendo J., Sokołowska B., Winiarczyk S. (2020). Influence of high hydrostatic pressure on the identification of lactobacillus by MALDI-TOF MS-preliminary study. *Microorganisms*, (Vol. 8, No. 6). doi: 10.3390/microorganisms8060813
9. Bucka-Kolendo J., Kiouisi D.E., Wojtczak A., Doulgeraki A.I., Galanis A., Sokołowska B. (2023). Depiction of the In Vitro and Genomic Basis of Resistance to Hop and High Hydrostatic Pressure of *Lactiplantibacillus plantarum* Isolated from Spoiled Beer. *Genes*, (Vol. 14, No. 9), 1710. doi: 10.3390/genes14091710
10. Bucka-Kolendo J., Sokołowska B. (2022). Impact of high hydrostatic pressure on the single nucleotide polymorphism of stress-related *dnaK*, *hrcA*, and *ctsR* in the *Lactobacillus* strains. *Quality Assurance and Safety of Crops and Foods*, (Vol. 14, No. 4), 54–66. doi: 10.15586/qas.v14i4.1132

11. Castaldo C., Siciliano R.A., Muscariello L., Marasco R., Sacco M. (2006). CcpA affects expression of the groESL and dnaK operons in *Lactobacillus plantarum*. *Microbial Cell Factories*, (Vol. 5). doi: 10.1186/1475-2859-5-35
12. Chao S.H., Kudo Y., Tsai Y.C., Watanabe K. (2012). *Lactobacillus futsaii* sp. nov., isolated from fu-tsai and suan-tsai, traditional taiwanese fermented mustard products. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, (Vol. 62), 489–494. doi: 10.1099/ij.s.0.030619-0
13. Chastanet A., Msadek T. (2003). clpP of *Streptococcus salivarius* is a novel member of the dually regulated class of stress response genes in Gram-positive bacteria. *Journal of Bacteriology*, (Vol. 185, No. 2), 683–687. doi: 10.1128/JB.185.2.683-687.2003
14. Daranas N., Badosa E., Francés J., Montesinos E., Bonaterra A. (2018). Enhancing water stress tolerance improves fitness in biological control strains of *Lactobacillus plantarum* in plant environments. *PLoS ONE*, (Vol. 13, No. 1). doi: 10.1371/journal.pone.0190931
15. Drews O., Weiss W., Reil G., Parlar H., Wait R., Görg A. (2002). High pressure effects step-wise altered protein expression in *Lactobacillus sanfranciscensis*. *PROTEOMICS*, (Vol. 2, No. 6), 765–774. doi: 10.1002/1615-9861(200206)2:6<765::AID-PROT765>3.0.CO;2-V
16. Ehrmann M.A., Scheyhing C.H., Vogel R.F. (2001). In vitro stability and expression of green fluorescent protein under high pressure conditions. *Lett. Appl. Microbiol.* (Vol. 32, No. 4), 230–234. doi: 10.1046/j.1472-765X.2001.00892.x.
17. Fischetti V.A., Novick R.P., Ferretti J.J., Portnoy D.A., Rood J.I. (2006). Fischetti Gram-positive pathogens. *Gram-Positive Pathogens, 2nd Ed. American Society for Microbiology*. doi: 10.1136/jcp.2006.040469
18. Fuller Z.L., Haynes G.D., Zhu D., Batterton M., Chao H., Dugan S., Javaid M., Jayaseelan J.C., Lee S., Li M., Onger F., Qi S., Han Y., Doddapaneni H., Richards S., Schaeffer S.W. (2014). Evidence for stabilizing selection on codon usage in chromosomal rearrangements of *Drosophila pseudoobscura*. *G3: Genes, Genomes, Genetics*, (Vol. 4, No. 12), 2433–2449. doi: 10.1534/g3.114.014860
19. Galhardo R.S., Hastings P.J., Rosenberg S.M. (2007). Mutation as a stress response and the regulation of evolvability. In *Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology* (Vol. 42, Issue 5), 399–435. doi: 10.1080/10409230701648502
20. Garai-Ibabe G., Ibarburu I., Berregi I., Claisse O., Lonvaud-Funel A., Irastorza A., Dueñas M. T. (2008). Glycerol metabolism and bitterness producing lactic acid bacteria in cidermaking. *International Journal of Food Microbiology*, (Vol. 121, No. 3), 253–261.

doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2007.11.004

21. Guidone A., Parente E., Zotta T., Guinane C.M., Rea M.C., Stanton C., Ross R.P., Ricciardi A. (2015). Polymorphisms in stress response genes in *Lactobacillus plantarum*: implications for classification and heat stress response. *Annals of Microbiology*, (Vol. 65, No. 1), 297–305. doi: 10.1007/s13213-014-0862-7
22. Hunt R., Sauna Z.E., Ambudkar S.V., Gottesman M.M., Kimchi-Sarfaty C. (2009). Silent (synonymous) SNPs: should we care about them? *Methods in molecular biology* (Vol. 578), pp. 23–39. doi: 10.1007/978-1-60327-411-1_2
23. Juvonen R., Virkajarvi V., Priha O., Laitila A. (2011). Microbiological spoilage and safety risks in non-beer beverages. In *VTT TIEDOTTEITA – RESEARCH NOTES* 2599
24. Kiouisi D.E., Bucka-Kolendo J., Wojtczak A., Sokołowska B., Doulgeraki A.I., Galanis A. (2023). Genomic Analysis and In Vitro Investigation of the Hop Resistance Phenotype of Two Novel *Loigolactobacillus backii* Strains, Isolated from Spoiled Beer. *Microorganisms*, (Vol. 11, No. 2). doi: 10.3390/microorganisms11020280
25. Klein G., Pack A., Bonaparte C., Reuter G. (1998). Taxonomy and physiology of probiotic lactic acid bacteria. *International Journal of Food Microbiology* (Vol. 41).
26. Koch B., Kilstrup M., Vogensen F.K., Hammer K. (1998). Induced Levels of Heat Shock Proteins in a dnaK Mutant of *Lactococcus lactis*. *Journal of Bacteriology* (Vol. 180, Issue 15)
27. Kong Y., Olejar K.J., On S.L.W., Chelikani V. (2020). The potential of *Lactobacillus* spp. for modulating oxidative stress in the gastrointestinal tract. *Antioxidants*, (Vol. 9, No. 7), doi.org/10.3390/antiox9070610
28. Korakli M., Ganzle M.G., Knorr R., Frank M., Rossmann A., Vogel R.F. (2002). Metabolism of *Lactobacillus sanfranciscensis* under high pressure: investigations using stable carbon isotopes. *Progress in Biotechnology*, (Vol. 19), 287-294. doi.org/10.1016/S0921-0423(02)80114-9
29. Kudla G., Murray A.W., Tollervey D., Plotkin J.B. (2009). Coding-sequence determinants of expression in *Escherichia coli*. *Science*, (Vol. 324, No. 5924), 255–258. doi: 10.1126/science.1170160
30. Lado B.H., Yousef A.E. (2002). Alternative food-preservation technologies: efficacy and mechanisms. *Microbes Infect.* (Vol. 4, No. 4), 433-40. doi: 10.1016/s1286-4579(02)01557-5
31. Lebeuf-Taylor E., McCloskey N., Bailey S.F., Hinz A., Kassen R. (2019). The distribution of fitness effects among synonymous mutations in a gene under directional

- selection. *Elife* (Vol. 8). doi: 10.7554/eLife.45952.001
32. Li L., Mendis N., Trigui H., Oliver J.D., Faucher S.P. (2014). The importance of the viable but non-culturable state in human bacterial pathogens. *Frontiers in Microbiology* (Vol. 5). doi: 10.3389/fmicb.2014.00258
33. Machiels R., Van Alen-Boerrigter I.J., Koole L.A., Bongers R.S., Kleerebezem M., Van Hylckama Vlieg, J.E.T. (2010). Indigenous and environmental modulation of frequencies of mutation in *Lactobacillus plantarum*. *Applied and Environmental Microbiology*, (Vol. 76, No. 5), 1587–1595. doi: 10.1128/AEM.02595-09
34. Makarova K., Slesarev A., Wolf Y., Sorokin A., Mirkin B., Koonin E., Pavlov A., Pavlova N., Karamychev V., Polouchine N., Shakhova V., Grigoriev I., Lou Y., Rohksar D., Lucas S., Huang K., Goodstein D.M., Hawkins T., Plengvidhya V., Mills D. (2006). Comparative genomics of the lactic acid bacteria. *Proc Natl Acad Sci U S A*. (Vol. 17, No.103(42)), 15611-6. doi: 10.1073/pnas.0607117103
35. Martín-Galiano A.J., Overweg K., Ferrándiz M.J., Reuter M., Wells J.M., de la Campa A.G. (2005). Transcriptional analysis of the acid tolerance response in *Streptococcus pneumoniae*. *Microbiology*, (Vol. 151, No. 12), 3935–3946. doi: 10.1099/mic.0.28238-0
36. Mathias S.P., Rosenthal A., Gaspar A., Aragão G.M.F., Slongo-Marcusi A. (2013). Prediction of acid lactic-bacteria growth in turkey ham processed by high hydrostatic pressure. *Braz J Microbiol.* (Vol. 5, No. 44). doi: 10.1590/S1517-83822013005000014
37. Mbye M., Baig M.A., AbuQamar S.F., El-Tarabily K.A., Obaid R.S., Osaili T.M., Al-Nabulsi A.A., Turner M.S., Shah N.P., Ayyash M.M. (2020). Updates on understanding of probiotic lactic acid bacteria responses to environmental stresses and highlights on proteomic analyses. In *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* (Vol. 19, Issue 3, pp. 1110–1124). *Pharmacotherapy Publications Inc.* doi: 10.1111/1541-4337.12554
38. Müller S., Nebe-Von-Caron G. (2010). Functional single-cell analyses: Flow cytometry and cell sorting of microbial populations and communities. *FEMS Microbiology Reviews* (Vol. 34, Issue 4, pp. 554–587). doi: 10.1111/j.1574-6976.2010.00214.x
39. Naser S.M., Dawyndt P., Hoste B., Gevers D., Vandemeulebroecke K., Cleenwerck I., Vancanneyt M., Swings J. (2007). Identification of lactobacilli by *pheS* and *rpoA* gene sequence analyses. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, (Vol. 57, No. 12), 2777–2789. doi: 10.1099/ijls.0.64711-0
40. Naser S.M., Thompson F.L., Hoste B., Gevers D., Dawyndt P., Vancanneyt M., Swings J. (2005). Application of multilocus sequence analysis (MLSA) for rapid identification of

- Enterococcus species based on *rpoA* and *pheS* genes. *Microbiology*, (Vol. 151, No. 7), 2141–2150. doi: 10.1099/mic.0.27840-0
41. Palud A., Scornec H., Cavin J.F., Licandro H. (2018). New genes involved in mild stress response identified by transposon mutagenesis in *Lactobacillus paracasei*. *Frontiers in Microbiology*, (Vol. 9). doi: 10.3389/fmicb.2018.00535
42. Papadimitriou K., Alegría Á., Bron P.A., de Angelis M., Gobbetti M., Kleerebezem M., Lemos J.A., Linares D.M., Ross P., Stanton C., Turróni F., van Sinderen D., Varmanen P., Ventura M., Zúñiga M., Tsakalidou E., Kok J. (2016). Stress Physiology of Lactic Acid Bacteria. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, (Vol. 80, No. 3), 837–890. doi: 10.1128/mmbr.00076-15
43. Papadimitriou K., Pratsinis H., Nebe-Von-Caron G., Kletsas D., Tsakalidou E. (2007). Acid tolerance of *Streptococcus macedonicus* as assessed by flow cytometry and single-cell sorting. *Applied and Environmental Microbiology*, (Vol. 73, No. 2), 465–476. doi: 10.1128/AEM.01244-06
44. Qiao N., Wittouck S., Mattarelli P., Zheng J., Lebeer S., Felis G. E., Gänzle M.G. (2022). After the storm-Perspectives on the taxonomy of *Lactobacillaceae*. *JDS Communications*, (Vol. 3, Issue 3), 222-227. doi.org/10.3168/jdsc.2021-0183.
45. Rendueles E., Omer M.K., Alvseike O., Alonso-Calleja C., Capita R., Prieto M. (2011). Microbiological food safety assessment of high hydrostatic pressure processing: A review. *LWT* (Vol. 44, Issue 5, pp. 1251–1260). doi: 10.1016/j.lwt.2010.11.001
46. Renye J.A., Piggot P.J., Daneo-Moore L. & Buttaro B.A. (2004). Persistence of *Streptococcus mutans* in stationary-phase batch cultures and biofilms. *Applied and Environmental Microbiology*, (Vol. 70, No. 10), 6181–6187. doi: 10.1128/AEM.70.10.6181-6187.2004
47. Rezzonico F., Vogel G., Duffy B., Tonolla M. (2010). Application of whole-cell matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry for rapid identification and clustering analysis of *Pantoea* species. *Applied and Environmental Microbiology*, (Vol. 76, No. 13), 4497–4509. doi: 10.1128/AEM.03112-09
48. Ricciardi A., Parente E., Guidone A., Ianniello R.G., Zotta T., Sayem S.M.A., Varcamonti, M. (2012). Genotypic diversity of stress response in *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus paraplantarum* and *Lactobacillus pentosus*. *International Journal of Food Microbiology*, (Vol. 157, No. 2), 278–285. doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2012.05.018
49. Roncarati D., Scarlato V. (2017). Regulation of heat-shock genes in bacteria: from signal sensing to gene expression output. *FEMS Microbiology Reviews* (Vol. 41, Issue 4). doi:

10.1093/FEMSRE/FUX015

50. Sánchez-Juanes F., Teixeira-Martín V., González-Buitrago J.M., Velázquez E., Flores-Félix, J.D. (2020). Identification of species and subspecies of lactic acid bacteria present in Spanish cheeses type “Torta” by MALDI-TOF MS and *pheS* gene analyses. *Microorganisms*, (Vol. 8, No. 2). doi: 10.3390/microorganisms8020301
51. Santos S.R., Ochman H. (2004). Identification and phylogenetic sorting of bacterial lineages with universally conserved genes and proteins. *Environmental Microbiology*, (Vol. 6, No. 7), 754–759. doi: 10.1111/j.1462-2920.2004.00617.x
52. Sauvageot N., Gouffi K., Laplace J.M., Auffray Y. (2000). Glycerol metabolism in *Lactobacillus collinoides*: production of 3-hydroxypropionaldehyde, a precursor of acrolein. *International Journal of Food Microbiology* (Vol. 55). doi: 10.1016/s0168-1605(00)00191-4
53. Schumann P., Maier T. (2014). MALDI-TOF mass spectrometry applied to classification and identification of bacteria. *Methods in Microbiology* (Vol. 41, pp. 275–306). doi: 10.1016/bs.mim.2014.06.002
54. Sean S., Prajapati J.B., Joshi C.G. (2014). Comparative genome-scale analysis of niche-based stress-responsive genes in *Lactobacillus helveticus* strains. *Genome*, (Vol. 57). dx.doi.org/10.1139/gen-2014-0020
55. Seng P., Drancourt M., Gourié F., Scola B. La Fournier P.E., Rolain J.M., Raoult D. (2009). Ongoing revolution in bacteriology: Routine identification of bacteria by matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry. *Clinical Infectious Diseases*, (Vol. 49, No. 4), 543–551. doi: 10.1086/600885
56. Serrazanetti D.I., Guerzoni M.E., Corsetti A., Vogel R. (2009). Metabolic impact and potential exploitation of the stress reactions in lactobacilli. *Food Microbiology*, (Vol. 26, No. 7), 700–711. doi: 10.1016/j.fm.2009.07.007
57. Serrazanetti I.D., Gottardi D., Montanari C., Gianotti A. (2013). Dynamic Stresses of Lactic Acid Bacteria Associated to Fermentation Processes. *Lactic Acid Bacteria - R & D for Food, Health and Livestock Purposes*. doi: 10.5772/51049
58. Sokołowska B., Nasiłowska J. (2020). 3 - Controlling Spoilage and Pathogenic Microorganisms in Beetroot (*Beta vulgaris*) Juice by High Hydrostatic Pressure. *Safety Issues in Beverage Production*. doi: 10.1016/B978-0-12-816679-6.00003-6
59. Sokołowska B., Skąpska S., Fonberg-Broczek M., Niezgoda J., Rutkowska M., Chotkiewicz M., Dekowska A., Dobros N., Rzoska S. (2012). Wpływ wysokiego ciśnienia hydrostatycznego na naturalną mikroflorę i barwę soków z warzyw

- korzeniowych (Impact of high hydrostatic pressure on native microflora and colour of root vegetable juices). *Postępy Nauki i Technologii Przemysłu Rolno-Spożywczego* (Vol. 67, No 4), 5-15.
60. Stackebrandt E., Frederiksen W., Garrity G.M., Grimont P.A.D., Kämpfer P., Maiden M.C.J., Nesme X., Rosselló-Mora R., Swings J., Trüper H.G., Vauterin L., Ward A.C., Whitman W.B. (2002). Report of the ad hoc committee for the re-evaluation of the species definition in bacteriology. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, (Vol. 52, No. 3), 1043–1047. doi: 10.1099/ijs.0.02360-0
61. Stiles M.E., Holzapfel W.H. (1997). Lactic acid bacteria of foods and their current taxonomy. *International Journal of Food Microbiology* (Vol. 36). doi: 10.1016/s0168-1605(96)01233-0
62. Sun Z., Harris H.M.B., McCann A., Guo C., Argimón S., Zhang W., Yang X., Jeffery I.B., Cooney J.C., Kagawa T.F., Liu W., Song Y., Salvetti E., Wrobel A., Rasinkangas P., Parkhill J., Rea M.C., O’Sullivan O., Ritari J., O’Toole P.W. (2015). Expanding the biotechnology potential of lactobacilli through comparative genomics of 213 strains and associated genera. *Nature Communications*, 6. doi: 10.1038/ncomms9322
63. Ulmer H.M., Herberhold H., Fahsel S., Gänzle M.G., Winter R., Vogel R.F. (2002). Effects of pressure-induced membrane phase transitions on inactivation of HorA, an ATP-dependent multidrug resistance transporter, in *Lactobacillus plantarum*. *Applied and Environmental Microbiology*, (Vol. 68, No. 3), 1088–1095. doi: 10.1128/AEM.68.3.1088-1095.2002
64. Ulrich L.E., Koonin E.V, Zhulin I.B. (2005). One-component systems dominate signal transduction in prokaryotes. *TRENDS in Microbiology* (Vol.13, No.2). doi: 10.1016/j.tim.2004.12.006
65. Van De Guchte M., Serror P., Chervaux C., Smokvina T., Ehrlich S.D., Maguin E. (2002). Stress responses in lactic acid bacteria. *Antonie van Leeuwenhoek* (Vol. 82), 187–216. <https://doi.org/10.1023/A:1020631532202>
66. Varhimo E., Savijoki K., Jalava J., Kuipers O.P. & Varmanen P. (2007). Identification of a novel streptococcal gene cassette mediating SOS mutagenesis in *Streptococcus uteris*. *Journal of Bacteriology*, (Vol. 189 , No.14), 5210–5222. doi: 10.1128/JB.00473-07
67. Vogel R.F., Pavlovic M., Hörmann S., Ehrmann M.A. (2005). High pressure stress in *Lactobacillus sanfranciscensis*. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research* (Vol. 38, Issue 8). doi: 10.1590/s0100-879x2005000800013

68. Welch T.J., Farewell A., Neidhardt F.C., Bartlett D.H. (1993). Stress Response of *Escherichia coli* to Elevated Hydrostatic Pressure. *J. Bacteriol.* (Vol. 175, Issue 22). doi: 10.1128/jb.175.22.7170-7177.1993
69. Wemekamp-Kamphuis H.H., Karatzas A.K., Wouters J.A., Abee T. (2002). Enhanced levels of cold shock proteins in *Listeria monocytogenes* LO28 upon exposure to low temperature and high hydrostatic pressure. *Applied and Environmental Microbiology*, (Vol. 68 No. 2), 456–463. doi: 10.1128/AEM.68.2.456-463.2002
70. Wouters P.C., Glaasker E., Smelt J.P. (1998). Effects of High Pressure on Inactivation Kinetics and Events Related to Proton Efflux in *Lactobacillus plantarum*. *Applied And Environmental Microbiology* (Vol. 64, Issue 2). doi: 10.1128/AEM.64.2.509-514.1998
71. Zheng J., Wittouck S., Salvetti E., Franz C.M.A.P., Harris H.M.B., Mattarelli P., O'Toole P.W., Pot B., Vandamme P., Walter J., Watanabe K., Wuyts S., Felis G.E., Gänzle M.G., Lebeer S. (2020). A taxonomic note on the genus *Lactobacillus*: Description of 23 novel genera, emended description of the genus *Lactobacillus beijerinck* 1901, and union of *Lactobacillaceae* and *Leuconostocaceae*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, (Vol. 70, No. 4), 2782–2858. doi: 10.1099/ijsem.0.004107
72. Zuber U., Schumann W. (1994). CIRCE, a Novel Heat Shock Element Involved in Regulation of Heat Shock Operon dnaK of *Bacillus subtilis*. *J Bacteriol.* (Vol. 176, Issue 5). doi: 10.1128/jb.176.5.1359-1363.1994

WARTOŚĆ WYPIEKOWA MĄKI ŻYTNIEJ TYP 1400 WYPRODUKOWANEJ W KRAJOWYCH MŁYNACH PRZEMYSŁOWYCH

Sylvia Stępniewska

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

sylvia.stepniewska@ibprs.pl

Otrzymano: 11 grudnia 2023

Poprawiono: 3 stycznia 2024

Zaakceptowano: 4 stycznia 2024

Streszczenie

Celem pracy było określenie wartości wypiekowej mąki żytniej typ 1400, wyprodukowanej w ośmiu krajowych młynach przemysłowych zlokalizowanych w różnych rejonach Polski. W badanych próbkach mąki oznaczono: zawartość popiołu, zawartość białka ogółem, stopień rozdrobnienia, wodochłonność, liczbę opadania, cechy amylograficzne, zawartość pentozanów (ogółem, rozpuszczalnych i nierozpuszczalnych). Wykonano również wypieki laboratoryjne metodą na zakwasie, a jakość otrzymanych chlebów określono na podstawie objętości bochenka, twardości i wilgotności miękiszu oraz przyrostu twardości podczas przechowywania pieczywa. Stwierdzono, że badane próbki mąki żytniej były istotnie zróżnicowane pod względem wszystkich wyróżników charakteryzujących ich wartość wypiekową. Chleby o wysokiej objętości i wilgotności otrzymano z próbek mąki żytniej charakteryzujących się wysoką wodochłonnością, wysoką zawartością pentozanów ogółem i rozpuszczalnych oraz wysokim udziałem pentozanów rozpuszczalnych. Wykazano, że na twardość pieczywa jak i jej przyrost podczas przechowywania chleba największy wpływ miała maksymalna lepkość kleiku skrobiowego i zawartość pentozanów nierozpuszczalnych w mące. Chleby otrzymane z próbek mąki o wyższej maksymalnej lepkości kleiku skrobiowego i większej zawartości pentozanów nierozpuszczalnych były mniej twarde i cechowały się mniejszym przyrostem twardości podczas przechowywania pieczywa.

Słowa kluczowe: aktywność amylolityczna, chleb żytni, liczba opadania, mąka żytnia, pentoza

BAKING VALUE OF RYE FLOUR TYPE 1400 FROM THE DOMESTIC CINDUSTRIAL MILLS

Summary

The aim of the study was to determine the baking value of rye flour type 1400 produced in eight domestic industrial mills located in various regions of Poland. The ash content, total protein content, flour practices sizes, water absorption, falling number, amylographic properties, and pentosan content (total, soluble and insoluble) were determined in tested rye flour samples. Laboratory baking was also made using the sourdough method, and the quality of obtained bread was determined based on the loaf volume, crumb hardness and moisture as well as increase of crumb hardness during bread storage. It was found that the tested rye flour samples were significantly different in terms of all study parameters characterized their quality. Breads with high volume and moisture were obtained from rye flour samples characterized by a high water absorption, a high content of total and soluble pentosans, as well as a high share of soluble pentosans. It was shown that the hardness of bread and its increase during bread storage were mainly influenced by amylograph maximum viscosity and insoluble pentosans content in flour. Bread obtained from rye flour samples with a higher amylograph maximum viscosity and a higher pentosans content were less hard and were characterized by a smaller increase hardness during bread storage.

Keywords: amylolytic activity, rye bread, falling number, rye flour, pentosans

WSTĘP

Żyto (*Secale* L.) jest zbożem, które wykorzystywane jest do produkcji pieczywa głównie w północnej i środkowej części Europy oraz w Niemczech [Poutanen i in. 2014]. Czołowymi producentami żyta są: Niemcy, Polska, Rosja i Dania [Rocznik Statystyczny Rolnictwa 2022]. Podstawowym kierunkiem wykorzystania ziarna żyta jest przemiał na mąki, których wartość wypiekową charakteryzuje się na podstawie oceny właściwości funkcjonalnych jej głównych polisacharydów, tj. skrobi i pentozanów oraz aktywności enzymów degradujących powyższe składniki [Gräber 1999]. W cieście żytnim białko pełni mniejszą rolę w tworzeniu jego struktury niż w cieście pszennym. Podczas wytwarzania ciasta żytniego nie tworzy się trójwymiarowa siatka glutenowa, co jest spowodowane przede wszystkim wysoką zawartością pentozanów, które tworzą roztwory o bardzo wysokiej lepkości, pochłaniają wodę szybciej niż białka [Arendt i in. 2007; Bucsella i in. 2016; Drakos i in. 2017].

Skrobia żytnia i enzymy ją hydrolizujące kształtują strukturę mięksamu chleba

w temperaturze powyżej 45°C [Gräber 1999; Poutanen i in. 2014]. W przeciwieństwie do skrobi pszennej, kleikuje w niższej temperaturze, tj. 55-70°C, wpływając na jej wyższą podatność na działanie enzymów amylolitycznych [Arendt i in. 2007]. W przemyśle zbożowo-młynarskim metodami stosowanymi najczęściej do oceny wartości wypiekowej mąki żytniej są badanie amylograficzne i oznaczenie liczby opadania. Metody te służą do oceny właściwości skrobi związanych z jej zdolnością do pęcznienia, kleikowania i podatnością na działanie enzymów amylolitycznych [Beck i in. 2011; Poutanen i in. 2014]. Mąka żytnia odpowiednia do wypieku charakteryzuje się liczbą opadania w zakresie 125-200 s [Słowik 2005] oraz maksymalną lepkością amylograficzną w przedziale 400-600 AU i końcową temperaturą kleikowania w zakresie 65-68°C [Verwimp i in. 2012]. Z mąki żytniej o zbyt niskiej aktywności enzymów amylolitycznych otrzymuje się pieczywo o niskiej objętości, z suchym i kruszącym się miększem, natomiast z mąki o zbyt wysokiej aktywności amylolitycznej pieczywo jest płaskie, z wilgotnym często zakalcowatym miększem [Beck i in. 2011; Poutanen i in. 2014].

Pentozany są drugim po skrobi składnikiem mąki żytniej odpowiedzialnym za kształtowanie jej wartości wypiekowej. Zaliczane są do nieskrobiowych polisacharydów i występują w ścianach komórkowych roślin jako substancje towarzyszące celulozie. Związki te wpływają na właściwości ciasta podczas jego miesienia i fermentacji oraz w pierwszej fazie wypieku [Poutanen i in. 2014]. Ze względu na rozpuszczalność klasyfikuje się na rozpuszczalne i nierozpuszczalne w wodzie [Izydorczyk, Biliaderis 1995; Cyran, Cygankiewicz 2004; Jaekel i in. 2012; Fadel i in. 2018]. Niskowyciągowe mąki żytnie, które w trakcie przemiału pozbawiane są znacznej ilości cząstek pochodzących z zewnętrznych części ziarna, charakteryzują się wyższą zawartością pentozanów rozpuszczalnych oraz niższą zawartością pentozanów nierozpuszczalnych w porównaniu do mąki całościarnowej [Cyran, Dynkowska 2014]. Oprócz ilości pentozanów istotny jest również udział pentozanów rozpuszczalnych w zawartości pentozanów ogółem. Z badań przeprowadzonych na mąkach żytnich całościarnowych otrzymanych w warunkach laboratoryjnych wynika, że mąki o wysokiej wartości wypiekowej charakteryzują się dużą zawartością pentozanów ogółem oraz wysokim udziałem pentozanów rozpuszczalnych [Salmenkallio-Marttila, Hovinen 2005]. Obie frakcje pentozanów wpływają na wzrost wodochłonności mąki [Cleemput i in. 1993; Biliaderis i in. 1995; Fabritius i in. 1997], ale w różny sposób oddziałują na właściwości ciasta i cechy jakościowe pieczywa. Pentozany rozpuszczalne już przy bardzo niskiej koncentracji mają zdolność tworzenia lepkich roztworów [He, Hosney 1991], dzięki czemu chronią powstające w cieście cząsteczki ditlenku węgla przed termicznym uszkodzeniem

[Izydorczyk, Biliaderis 1992] oraz spowalniają ich uwalnianie w trakcie wypieku pieczywa [He, Hoskeney 1991], co wpływa na otrzymanie chleba o większej objętości i mniej twardym miększu [Vinkx, Delcour 1996]. W przypadku pentozanów nierozpuszczalnych Kühn i Grosch [1989] wykazali, że zwiększają one odporność ciasta na mieszenie i jego stabilność, co nie przekłada się jednak na jakość uzyskanego pieczywa.

Celem pracy było określenie wartości wypiekowej próbek mąki żytniej typ 1400 pochodzących z krajowych młynów przemysłowych.

MATERIAŁ I METODY BADAŃ

Materiałem badawczym było osiem próbek mąki żytniej typ 1400 wyprodukowanych w 2014 roku w krajowych młynach przemysłowych o zróżnicowanej technologii przemiału i różnej zdolności produkcyjnej, zlokalizowanych w różnych rejonach Polski. Próbkę mąki (po jednej z każdego młyna) były dostarczane bezpośrednio z młynów do Zakładu Przetwórstwa Zbóż i Piekarstwa Instytutu Biotechnologii Przemysłu Rolno-Spożywczego im. prof. Wacława Dąbrowskiego w Warszawie – Państwowego Instytutu Badawczego (ZPZiP IBPRS-PIB) w okresie maj-czerwiec 2013 roku. W badanych próbkach mąki oznaczono: zawartość popiołu wg PN-EN ISO 2171:2010, zawartość białka ogółem wg PN-EN ISO 20483:2007, stopień rozdrobnienia wg PN-A-74015:1973 przy użyciu odsiewacza mechanicznego (określano udział frakcji przesiewającej się przez sito o wielkości oczek 95 μm), cechy amylograficzne wg PN-ISO 7973:2001 przy użyciu amylografu firmy Brabender typ 800145010, liczbę opadania wg PN-EN ISO 3093:2010 w aparacie Falling Number FN 1500 firmy Perten, zawartość pentozanów ogółem i rozpuszczalnych wg Hashimoto i in. [1987]. Z różnicy pentozanów ogółem i rozpuszczalnych obliczono zawartość pentozanów nierozpuszczalnych. Określono również udział pentozanów rozpuszczalnych w zawartości pentozanów ogółem. Wodochłonność mąki oznaczono według metodyki określonej w normie PN-EN ISO 5530-1:1999 przy użyciu farinografu firmy Brabender typ 800145010 z mieszalnikiem na 300 g mąki. Wypieki laboratoryjne przeprowadzano metodą na kwasie wytworzonym na bazie kultur starterowych LV2 produkcji Lesaffre Polska. Kwasy sporządzano z 300 g mąki, co stanowiło 30% mąki przewidzianej w recepturze, 1,5 g kultury starterowej oraz 450 cm^3 wody. Kwasy prowadzono w temperaturze 30°C w czasie 24 godzin. Następnie sporządzano ciasto dodając do kwasu 700 g mąki, 20 g drożdży, 17 g soli oraz wodę w ilości określonej podczas badania farinograficznego, która odpowiadała objętości wody potrzebnej do wytworzenia ciasta o konsystencji 300 FU. Ilość wody dodanej do ciasta pomniejszono o ilość wody wprowadzonej z kwasem, tj. o 450 cm^3 . Mieszenie ciasta

prowadzono w miesiarce Turbo-mix-6,5 firmy HOMMEL przez 6 minut na wolnych obrotach mieszadła. Temperatura ciasta po miesieniu wynosiła 30-32°C. Fermentację ciasta prowadzono przez 20 minut. Następnie ciasto dzielono na kęsy o masie 350 g, które po uformowaniu wkładano do foremek i poddawano rozrostowi końcowemu w komorze fermentacyjnej o temperaturze 35°C i wilgotności względnej powietrza 70-75% przez 20-25 minut. Wypiek przeprowadzano w półkowym piecu Piccolo Wachtel Winkler w temperaturze 260°C przez 8 minut, a następnie w 220°C przez 32 minuty, z początkowym zaparowaniem. Badanie bochenków chleba przeprowadzano po 20 ± 4 godzinach od wypieku. Ocena jakości pieczywa obejmowała oznaczenie objętości bochenka chleba, wilgotności (metodą suszarkową) i twardości jego miękiszu. Objętość i wilgotność miękiszu chleba badano zgodnie z metodyką określoną w normie PN-A-74108:1996. Do pomiaru objętości wykorzystywano aparat Sawy, a wynik przeliczano na 100 g pieczywa. Twardość miękiszu oznaczano za pomocą urządzenia Instron typ 1140. Badanie polegało na ściśnięciu do 50% wysokości kromki chleba o grubości 3 cm. Stosowano próbnik o średnicy 35 mm oraz prędkości przesuwu głowicy aparatu 50 mm/min. Oznaczenie wykonano na próbkach ze środkowej części chleba. Z uzyskanej krzywej odczytywano maksymalną siłę odkształcenia próbek miękiszu chleba, definiowanej jako twardość miękiszu, a wyniki podawano w niutonach [N]. Wynik oznaczenia przyjmowano jako wartość średnią trzech powtórzeń dla każdej próbki chleba. W celu określenia zmian twardości miękiszu w trakcie przechowywania pieczywa oznaczenie twardości wykonano również 72 godziny po wypieku.

W celu wykazania wpływu rodzaju mąki na wartości poszczególnych wskaźników, za pomocą testu t-Tukey'a, wyznaczano najmniejsze istotne różnice pomiędzy wartościami średnimi (NIR). Obliczenia wykonano przy poziomie istotności $\alpha=0,05$. W celu określenia zależności pomiędzy badanymi wyróżnikami jakościowymi wyznaczono współczynniki korelacji liniowej Pearsona przy $\alpha = 0,05$ i 0,01. Do obliczeń wykorzystano program Statgraphics Centurion XVII.II.

WYNIKI I DYSKUSJA

Podstawowe wyróżniki jakościowe badanych próbek mąki żytniej

Przeprowadzone badania wykazały istotne zróżnicowanie badanych próbek mąki żytniej pod względem wszystkich ocenionych w pracy podstawowych wyróżników jakościowych (tab. 1). Zawartość popiołu mieściła się w zakresie od 1,23 do 1,43% s.m. Istotnie najwyższą zawartością omawianego wyróżnika jakościowego charakteryzowała się próbka mąki 5/1400 (średnio 1,43% s.m.), zaś istotnie najniższą próbka mąki 1/1400 (średnio 1,24% s.m.).

Wszystkie badane mąki żytnie (wyjątek próbka 1/1400) spełniały wymagania normy PN-A-74032:2002 w odniesieniu do zawartości popiołu, która w przypadku mąki typ 1400 powinna mieścić się w zakresie od 1,31 do 1,60% s.m.

Zawartość białka, która w mące żytniej kształtuje się na niższym poziomie niż w mące pszennej, mieściła się w zakresie od 8,1 do 11,7% s.m. Istotnie najwyższą zawartością powyższego składnika odżywczego charakteryzowała się próbka mąki 7/1400 (średnio 11,7% s.m.), zaś istotnie najniższą próbka mąki 4/1400 (średnia 8,2% s.m.). Należy zaznaczyć, że białko mąki żytniej charakteryzuje się też wyższą wartością biologiczną, co wynika z wyższej zawartości białka rozpuszczalnego niż w mące pszennej [Kučerová 2009; Borowy 2015]. Pod koniec fermentacji kwasowej ciasta żytniego ponad 90% zawartych w nim białek staje się rozpuszczalnych w wodzie [Gąsiorowski 1994; Słowik 2011].

Tabela 1. Podstawowe wyróżniki jakościowe badanych próbek mąki żytniej
Basic quality parameters of tested rye flour samples

Próbka mąki żytnia	Zawartość popiołu (% s.m.)	Zawartość białka (Nx6,25) (% s.m.)	Udział frakcji przesiewającej się przez sito 95µm (%)	Wodochłonność mąki (%)
1/1400	1,24 ^f ±0,01	11,1 ^{bc} ±0,3	38,4 ^{bc} ±0,3	63,6 ^c ±0,1
2/1400	1,38 ^{bc} ±0,01	9,4 ^d ±0,1	37,6 ^c ±0,6	58,2 ^e ±0,2
3/1400	1,37 ^{cd} ±0,01	9,4 ^d ±0,0	35,2 ^d ±0,1	62,4 ^d ±0,1
4/1400	1,31 ^e ±0,01	8,2 ^e ±0,1	75,3 ^a ±0,3	64,4 ^b ±0,4
5/1400	1,43 ^a ±0,00	10,6 ^c ±0,1	40,0 ^b ±1,4	64,8 ^b ±0,1
6/1400	1,31 ^e ±0,01	11,4 ^{ab} ±0,1	34,3 ^d ±0,3	66,1 ^a ±0,1
7/1400	1,32 ^{de} ±0,01	11,7 ^a ±0,0	26,2 ^e ±0,3	66,8 ^a ±0,1
8/1400	1,42 ^{ab} ±0,01	11,2 ^{ab} ±0,1	20,6 ^f ±0,1	66,5 ^a ±0,3
Zakres	1,23-1,43	8,1-11,7	20,5-75,5	58,1-66,8

a-f – oznaczenia literowe w tej samej kolumnie dotyczą grup homogenicznych wyznaczonych przy $\alpha = 0,05$; wartości oznaczone tą samą literą nie różnią się istotnie statystycznie

Stopień rozdrobnienia mąki, tzw. granulacja, ma wpływ na zdolność pochłaniania wody przez mąkę, aktywność fermentacyjną ciasta, objętość chleba i jego cechy organoleptyczne [Jurga 2005]. Większe rozdrobnienie mąki z jednej strony sprzyja intensyfikacji procesu fermentacji ciasta, z drugiej strony mąka o bardzo drobnej granulacji może mieć większe właściwości buforujące, wynikające ze zwiększonej zawartości składników rozpuszczalnych, co stwarza niebezpieczeństwo nadmiernej degradacji substratów odpowiedzialnych za tworzenie struktury ciasta i pieczywa [Stępniewska 2017]. W obecnych badaniach najdrobniejszą granulacją, ze względu na najwyższy udział frakcji przesiewającej się przez

sito 95 μm , charakteryzowała się próbka mąki 4/1400 (średnio 75,3%), zaś próbka mąki 8/1400 cechowała się najniższym udziałem frakcji przesiewającej się przez sito 95 μm (średnio 20,6%). Badania przeprowadzone przez Kiryluka i in. [2010] wykazały, że frakcje mąki żytniej o drobniejszej granulacji charakteryzują się niższą zawartością białka niż frakcje grube. Zostało to potwierdzone w obecnej pracy, gdzie stwierdzono, że próbki mąki o niższej zawartości białka charakteryzowały się relatywnie drobniejszą granulacją ($r=-0,790$; tab. 5).

Wodochłonność badanych próbek mąki żytniej mieściła się w zakresie od 58,1 do 66,8%. Najkorzystniej pod względem powyższego parametru oceniono następujące próbki mąki - 6/1400, 7/1400 i 8/1400, które charakteryzowały się średnią wodochłonnością na poziomie odpowiednio: 66,1, 66,7 i 66,1%. Istotnie najniższą wodochłonnością charakteryzowała się próbka mąki 2/1400 (średnio 58,2%).

Właściwości układu skrobiowo-amylolicznego

W tabeli 2 przedstawiono wyniki liczby opadania oraz oceny amylograficznej, za pomocą których określono właściwości układu skrobiowo-amylolicznego badanych próbek mąki żytniej. Liczba opadania, będąca miernikiem aktywności α -amylazy, mieściła się w zakresie od 179 do 295 s. Próbka mąki 4/1400 charakteryzowała się istotnie wyższą od pozostałych próbek liczbą opadania (średnio 290 s). Według Michalskiej i in. [2007] optymalny poziom wartości liczby opadania w odniesieniu do mąki żytniej przeznaczonej do wypieku pieczywa mieści się w zakresie od 100 do 200 s. Liczbą opadania w przedstawionym zakresie cechowała się tylko próbka mąki 3/1400, która charakteryzowała się najniższą spośród badanych próbek mąki liczbą opadania (średnio 182 s). Pozostałe mąki żytnie charakteryzowały się liczbą opadania powyżej optymalnego poziomu, świadczącą o niskiej aktywności enzymów amylolicznych. Dane literaturowe wskazują, że ciasto uzyskane z mąki żytniej o niskiej aktywności α -amylazy wykazuje tendencję do słabszego wyrastania, jest mniej spulchnione, a otrzymany chleb charakteryzuje się niską objętością i twardym mięksizmem [Szafrńska, Słowik 2014].

Tabela 2. Parametry określające właściwości układu skrobiowo-amylolytycznego badanych próbek mąki żytniej
Parameters determining the starch-amylolytic complex of the tested rye flour samples

Próbka mąki żytniej	Liczba opadania (s)	Ocena amylograficzna		
		Maksymalna lepkość kleiku skrobiowego (AU)	Temperatura początkowa kleikowania skrobi (°C)	Temperatura końcowa kleikowania skrobi (°C)
1/1400	238 ^{bc} ±5	460 ^{bc} ±28	54,8 ^b ±1,1	68,5 ^d ±0,7
2/1400	212 ^d ±4	370 ^d ±14	54,2 ^b ±0,4	70,8 ^c ±0,4
3/1400	182 ^e ±4	360 ^d ±14	54,2 ^b ±0,4	71,2 ^{bc} ±0,4
4/1400	290 ^a ±7	630 ^d ±14	57,8 ^a ±0,4	73,5 ^a ±0,7
5/1400	222 ^{cd} ±4	455 ^{bc} ±7	58,2 ^a ±0,4	72,5 ^{ab} ±0,7
6/1400	242 ^b ±2	410 ^{cd} ±14	54,0 ^b ±0,7	68,0 ^d ±0,7
7/1400	254 ^b ±1	485 ^b ±4	55,0 ^b ±0,0	67,2 ^d ±0,4
8/1400	247 ^b ±4	280 ^e ±7	53,2 ^b ±0,4	68,0 ^d ±0,7
Zakres	179-295	275-640	53,0-58,5	67,0-74,0

a-e – oznaczenia literowe w tej samej kolumnie dotyczą grup homogenicznych wyznaczonych przy $\alpha = 0,05$; wartości oznaczone tą samą literą nie różnią się istotnie statystycznie

Maksymalna lepkość kleików skrobiowych mieściła się w przedziale od 275 do 640 AU. We wcześniejszych badaniach własnych [Stępniewska 2017; Stępniewska i in. 2021] mąki żytnie o niższej niż w obecnej pracy zawartości popiołu (zakres od 0,43 do 0,88% s.m.) wyprodukowane w krajowych młynach przemysłowych charakteryzowały się maksymalnymi lepkościami kleików skrobiowych w szerszym zakresie, tj. od 275 do 1045 AU. W obecnej pracy wykazano, że próbka mąki 4/1400 charakteryzowała się istotnie najwyższą maksymalną lepkością kleiku skrobiowego (średnio 630 AU), zaś próbka mąki 8/1400 istotnie najniższą (średnio 280 AU). Stwierdzono, że powyższe dwie badane próbki mąki żytniej charakteryzowały się maksymalną lepkością przekraczającą optymalny zakres dla mąki żytniej przeznaczonej do wypieku, tj. 400-600 AU [Słowik 2005]. Natomiast pozostałe badane próbki mąki żytniej charakteryzowały się maksymalną lepkością w optymalnym zakresie. Przeprowadzona analiza statystyczna wykazała istotne dodatnie zależności pomiędzy maksymalną lepkością kleiku skrobiowego i liczbą opadania ($r=0,874$; tab. 5). Podobne zależności wykazano we wcześniejszych badaniach własnych [Stępniewska i in. 2018; 2021].

Temperatura początkowa kleikowania skrobi mieściła się w zakresie od 53,0 do 58,5°C, zaś temperatura końcowa kleikowania skrobi w przedziale od 67,0 do 74,0°C. Wykazano,

że zawiesiny otrzymane z próbek mąki 4/1400 i 5/1400 charakteryzowały się istotnie wyższą temperaturą początkową kleikowania skrobi (odpowiednio 57,8 i 58,2°C) w porównaniu do zawiesin z pozostałych próbek mąki żytniej. Różnice w początkowych temperaturach kleikowania skrobi między badanymi mąkami żytnimi prawdopodobnie mogą wynikać z różnic w budowie skrobi, tj. wielkości granulek [Ratnayake, Jackson 2006], udziału amylozy i amylopektyny [Blazek, Copeland 2008] oraz różnic w masie cząsteczkowej skrobi [Makowska i in. 2014]. Podobnie jak w przypadku początkowej temperatury kleikowania skrobi, zawiesiny z próbek mąki 4/1400 i 5/1400 charakteryzowały się najwyższymi końcowymi temperaturami kleikowania skrobi (odpowiednio średnia: 73,5 i 72,5°C). Według Słowik [2005] optymalna temperatura końcowa kleikowania skrobi w odniesieniu do mąki żytniej przeznaczonej do produkcji pieczywa powinna kształtować się w zakresie od 63,0 do 68,0°C. Spośród zawiesin otrzymanych z badanych próbek mąki żytniej końcowymi temperaturami kleikowania skrobi w powyższym zakresie mieściły się tylko trzy próbki, tj. 6/1400, 7/1400 i 8/1400. Temperatura końcowa kleikowania skrobi zawiesin z pozostałych badanych próbek mąk żytnich kształtowała się na poziomie powyżej 68,0°C. Również w badaniach Buksy i in. [2012] temperatury końcowe kleikowania skrobi większości zawiesin z mąki otrzymanej z przemiału ziarna żyta pochodzącego z trzech kolejnych lat zbiorów przekraczały 68,0°C.

Zawartość poszczególnych frakcji pentozanów

Badane próbki mąki żytniej były istotnie zróżnicowane pod względem zawartości pentozanów ogółem, rozpuszczalnych i nierozpuszczalnych, jak również udziału pentozanów rozpuszczalnych w zawartości pentozanów ogółem (tab. 3). Zawartość pentozanów ogółem mieściła się w zakresie od 7,88 do 9,81% s.m. Próbką mąki 7/1400 charakteryzowała się najwyższą zawartością omawianego składnika odżywczego (średnio 9,76% s.m.), zaś najniższą zawartością pentozanów ogółem cechowała się próbka mąki żytniej 2/1400 (średnio 7,90% s.m.). Przeprowadzona analiza statystyczna wykazała istotne korelacje pomiędzy zawartością pentozanów ogółem a wodochłonnością farinograficzną ($r=0,812$, tab. 5), co jest zgodne z wynikami badań przeprowadzonych przez Buksę i in. [2015] oraz Sapirsteina i in. [2018].

Tabela 3. Zawartość pentozanów w badanych próbkach mąki żytniej
Pentosans content in tested rye flour samples

Próbka mąki żytniej	Zawartość pentozanów			Udział pentozanów rozpuszczalnych (%)
	ogółem (% s.m.)	rozpuszczalnych (% s.m.)	nierozpuszczalnych (% s.m.)	
1/1400	8,57 ^d ±0,06	3,35 ^c ±0,07	5,22 ^e ±0,01	39 ^d ±2
2/1400	7,90 ^e ±0,02	2,74 ^d ±0,06	5,16 ^e ±0,08	34 ^f ±1
3/1400	9,36 ^{bc} ±0,14	3,84 ^b ±0,11	5,52 ^{cd} ±0,04	41 ^c ±1
4/1400	9,21 ^{bc} ±0,08	3,31 ^c ±0,04	5,90 ^d ±0,04	36 ^e ±0
5/1400	9,05 ^c ±0,13	3,30 ^c ±0,11	5,75 ^{ab} ±0,01	37 ^e ±2
6/1400	9,51 ^{ab} ±0,08	4,06 ^{ab} ±0,06	5,45 ^d ±0,03	43 ^b ±1
7/1400	9,76 ^a ±0,08	4,07 ^{ab} ±0,03	5,69 ^{bc} ±0,06	42 ^{bc} ±1
8/1400	9,10 ^c ±0,07	4,18 ^a ±0,03	4,92 ^f ±0,04	46 ^a ±0
Zakres	7,88-9,81	2,70-4,20	4,89-5,93	34-46

a-f – oznaczenia literowe w tej samej kolumnie dotyczą grup homogenicznych wyznaczonych przy $\alpha = 0,05$; wartości oznaczone tą samą literą nie różnią się istotnie statystycznie

Zawartość pentozanów rozpuszczalnych kształtowała się w zakresie od 2,70 do 4,20% s.m. Najniższą zawartością tej frakcji pentozanów charakteryzowała się próbka mąki 2/1400 (średnio 2,74% s.m.). Najkorzystniej pod względem zawartości pentozanów ogółem oceniono następujące próbki mąki - 6/1400, 7/1400 oraz 8/1400, w przypadku których zawartość omawianej frakcji pentozanów była na poziomie powyżej 4,00% s.m. Podobnie jak w przypadku pentozanów ogółem stwierdzono istotną zależność pomiędzy zawartością pentozanów rozpuszczalnych a wodochłonnością farinograficzną ($r=0,797$; tab. 5).

Zawartość pentozanów nierozpuszczalnych kształtowała się na wyższym poziomie niż frakcji rozpuszczalnej i mieściła się w zakresie od 4,89 do 5,93% s.m. Istotnie najniższą zawartością nierozpuszczalnej frakcji pentozanów charakteryzowała się próbka 8/1400 (średnio 4,92% s.m.), zaś próbka mąki 4/1400 cechowała się najwyższą zawartością omawianej frakcji pentozanów (średnio 5,90% s.m.).

Z badań przeprowadzonych na całościarnowych mąkach żytnich otrzymanych w warunkach laboratoryjnych wynika, że mąki o wysokiej wartości wypiekowej charakteryzują się dużą zawartością pentozanów ogółem oraz wysokim udziałem pentozanów rozpuszczalnych (PRu) [Salmenkallio-Marttila, Hovinen 2005]. W obecnej pracy PRu mieścił się w przedziale od 34 do 46%. Istotnie najmniejszym PRu charakteryzowała się próbka mąki żytniej 2/1400 (średnio 34%), zaś najwyższym próbka mąki 8/1400 (średnio 46%).

Parametry jakościowe pieczywa żytniego

Otrzymane z badanych próbek mąki żytniej chleby żytnie były zróżnicowane pod względem jakości (tab. 4). Objętość 100 g pieczywa kształtowała się w zakresie od 142 do 250 cm³. We wcześniejszych badaniach własnych [Stępniewska 2019] chleby żytnie otrzymane z handlowych mąk żytnich typ 720 w przeliczeniu na 100 g pieczywa charakteryzowały się objętością w węższym zakresie, tj. od 210 do 230 cm³. W obecnej pracy chleb otrzymany z próbki mąki żytniej 7/1400 charakteryzował się istotnie najwyższą objętością (średnio 249 cm³/100 g pieczywa) i według kryteriów podanych w normie PN-A-74108:1996 jako jedyny uzyskał ocenę bardzo dobrą pod względem objętości w odniesieniu do pieczywa z mąki typ 1400. Najniższą objętością cechował się chleb z mąki żytniej 2/1400 (średnio 144 cm³ na 100 g pieczywa). Natomiast w badaniach przeprowadzonych przez Pejcz i in. [2020] chleby żytnie otrzymane z mąki niskowyciągowej i całościarnowej charakteryzowały się objętością na poziomie odpowiednio: 267 i 184 cm³. Analiza statystyczna wykazała istotne dodatnie zależności pomiędzy objętością pieczywa a zawartością pentozanów ogółem i rozpuszczalnych (odpowiednio $r=0,802$ i $r=0,840$, tab. 5). Podobnie jak we wcześniejszych badaniach własnych [Stępniewska 2017] zaobserwowano, że chleby o największej objętości otrzymano z próbek mąki, które charakteryzowały się wysoką wodochłonnością oraz najwyższym udziałem pentozanów rozpuszczalnych [Stępniewska i in. 2021]. Nie stwierdzono istotnych zależności pomiędzy objętością pieczywa a parametrami informującymi o właściwościach układu skrobiowo-amylolicznego badanymi w obecnej pracy (tab. 5).

Tabela 4. Parametry jakościowe chlebów otrzymanego z badanych próbek mąki żytniej
Quality parameters of bread obtained from tested rye flour samples

Chleb z próbki mąki żytniej	Objętość bochenka chleba (cm ³ /100g)	Twardość miękkiszu 24 h po wypieku (N)	Twardość miękkiszu 72 h po wypieku (N)	Zwiększenie twardości miękkiszu w trakcie 48 h przechowywania pieczywa (N)	Wilgotność miękkiszu (%)
1/1400	178 ^{cd} ±1	32,2 ^f ±0,3	57,8 ^{cd} ±0,8	25,6 ^c ±0,6	49,5 ^a ±0,3
2/1400	144 ^e ±2	43,4 ^b ±0,5	83,4 ^b ±0,3	40,0 ^b ±0,8	45,2 ^b ±0,4
3/1400	180 ^c ±1	39,2 ^d ±0,3	61,1 ^c ±0,8	21,9 ^c ±1,1	49,3 ^{ab} ±0,1
4/1400	185 ^c ±3	19,2 ^g ±0,5	28,4 ^e ±0,3	9,2 ^d ±0,2	49,2 ^{ab} ±0,4
5/1400	170 ^d ±3	45,4 ^a ±0,1	59,6 ^c ±0,3	14,2 ^d ±0,1	48,2 ^{ab} ±0,3
6/1400	205 ^b ±3	40,0 ^c ±0,7	53,7 ^d ±0,9	13,7 ^d ±0,4	50,3 ^a ±0,3
7/1400	249 ^a ±1	35,8 ^e ±0,5	59,4 ^c ±0,5	23,6 ^c ±0,2	50,2 ^a ±0,1
8/1400	212 ^b ±3	37,0 ^e ±0,3	92,6 ^a ±1,1	55,6 ^a ±0,9	50,1 ^a ±0,1
Zakres	142-250	18,8-45,5	28,2-92,7	9,1-55,8	44,9-50,5

a-g – oznaczenia literowe w tej samej kolumnie dotyczą grup homogenicznych wyznaczonych przy $\alpha = 0,05$; wartości oznaczone tą samą literą nie różnią się istotnie statystycznie

Twardość miękiszu jest jednym z podstawowych parametrów tekstury pieczywa [Bukša i in. 2010]. Oznaczenie twardości miękiszu pieczywa przeprowadzono 24 i 72 godziny po wypieku. Twardość miękiszu oceniana 24 godziny po wypieku mieściła się w przedziale od 18,8 do 45,5 N, zaś po 72 godzinach po wypieku była w zakresie od 28,2 do 92,7 N. W badaniach przeprowadzonych przez Ostasiewicz i in. [2010] badane chleby żytnie charakteryzowały się twardością na zdecydowanie niższym poziomie (od 4,4 do 11,5 N). Prawdopodobnie wynikało to z różnic w poziomie aktywności enzymów amylolitycznych próbek mąki żytniej użytych do wypieku pieczywa. W badaniach Ostasiewicz i in. [2010] materiałem do badań były mąki żytnie o wysokiej aktywności enzymów amylolitycznych, zaś w badaniach własnych zdecydowana większość mąk żytnich cechowała się niską aktywnością enzymów amylolitycznych. W obecnej pracy w przypadku próbki mąki 4/1400 miękisz chleba po 24 i 72 godzinach po wypieku charakteryzował się najniższą twardością 24 i 72 godziny po wypieku (odpowiednio średnia - 19,2 N i 28,4 N). Najmniej korzystnie pod względem twardości, ze względu na najwyższą twardość po 24 godzinach po wypieku oceniono miękisz chleba z próbki mąki 5/1400 (średnio 43,4 N). Natomiast najwyższą twardością 72 godziny po wypieku cechował się miękisz chleba z próbki mąki 8/1400 (średnio 92,6 N). Analiza statystyczna wykazała istotne ujemne zależności pomiędzy twardością miękiszu a udziałem frakcji mąki przesiewającej się przez sito o wielkości oczek 95 μm oraz maksymalną lepkością kleiku skrobiowego (tab. 5). Również we wcześniejszych badaniach własnych [Stępniewska i in. 2019] z mąki żytniej o drobniejszej granulacji otrzymano chleby o mniej twardym miękiszu w porównaniu do miękiszu chlebów z mąki o grubszej granulacji. W obecnej pracy stwierdzono również, że istotny wpływ na twardość miękiszu chleba 72 godziny po wypieku miała zawartość pentozanów nierozpuszczalnych ($r=-0,842$; tab. 5).

Zwiększenie twardości miękiszu w trakcie przechowywania pieczywa, które może być wskaźnikiem zaawansowania procesu jego czerstwienia, mieściło się w zakresie od 9,1 do 55,8 N. We wcześniejszych badaniach własnych [Stępniewska 2019] miękisze chleba żytniego z próbek mąki żytniej typ 720 charakteryzowały się zwiększeniem twardości w trakcie przechowywania pieczywa w węższym zakresie, tj. od 9,4 do 31,9 N. Najwyższym zwiększeniem twardości charakteryzował się miękisz chleba z próbki mąki 8/1400 (średnio 55,6 N), zaś miękisze chleba z próbek mąki - 4/1400, 5/1400 i 6/1400 cechowały się istotnie najmniejszym zwiększeniem twardości, tj. w zakresie od 9,2 do 14,2 N. Wykazano istotną ujemną korelację pomiędzy zwiększeniem twardości miękiszu w trakcie przechowywania pieczywa a maksymalną lepkością kleiku skrobiowego i zawartością pentozanów

nierozpuszczalnych (tab. 5).

Wilgotność miękiszu 24 h po wypieku kształtowała się przedziale od 44,9 do 50,5%. W podobnym przedziale kształtowały się wilgotności miękiszów chlebów żytnich badanych przez Buksę i in. [2010]. Wykazano, że miękisz chleba z próbki mąki 2/1400 charakteryzował się istotnie niższą wilgotnością (średnio 45,2%) w porównaniu do miękiszów chleba z następujących próbek mąki - 1/1400, 6/1400, 7/1400 i 8/1400, które charakteryzowały się wilgotnością na poziomie powyżej 49,0%. Stwierdzono, że na omawiany parametr jakościowy pieczywa istotny wpływ miała zawartość pentozańców rozpuszczalnych i ich udział w zawartości pentozańców ogółem (odpowiednio $r=0,862$ i $r=0,757$; tab. 5). Uzyskane wyniki badań wskazują również na ścisły związek pomiędzy wodochłonnością mąki a wilgotnością miękiszu chleba, co jest zbieżne z wynikami badań Buksy i in. [2010]. Większą wilgotnością miękiszu charakteryzowały się chleby uzyskane z mąki o wyższej wodochłonności ($r=0,879$; tab. 5). Podobnie jak w badaniach Buksy [2014] stwierdzono, że chleby otrzymane z próbek mąki o wyższej zawartości pentozańców ogółem cechowały się relatywnie bardziej wilgotnym miękiszem. Obliczony współczynnik korelacji pomiędzy zawartością pentozańców ogółem w mące i wilgotnością miękiszu chleba był istotny statystycznie i kształtował się na poziomie $r = 0,834$ (tab.5).

Tabela 5. Współczynniki korelacji pomiędzy wybranymi wyróżnikami mąki żytniej i pieczywa żytniego istotne przy $\alpha=0,05$ i $\alpha=0,01$ *
*Correlation coefficients between selected quality parameters of rye flour and rye bread significant at $\alpha = 0.05$ and $\alpha = 0.01$ **

Cecha	Gr ₉₅	W _M	Max _{lep}	T _k	LO	ZPO	ZPR	ZPN	PRu	O _p	T ₂₄	T ₇₂	ZT	W _{mp}
ZB	-0,790	r.n.	r.n.	-0,845*	r.n.	r.n.	r.n.	r.n.	r.n.	r.n.	r.n.	r.n.	r.n.	r.n.
Gr ₉₅			0,740	0,754	r.n.	r.n.	r.n.	r.n.	r.n.	r.n.	-0,711	-0,786	r.n.	r.n.
W _M			r.n.	r.n.	r.n.	0,812	0,797	r.n.	r.n.	0,832*	r.n.	r.n.	r.n.	0,879*
Max _{lep}				r.n.	0,874*	r.n.	r.n.	r.n.	r.n.	r.n.	-0,836*	-0,716	r.n.	r.n.
T _k					r.n.	r.n.	r.n.	r.n.	-0,724	r.n.	r.n.	r.n.	r.n.	r.n.
LO						r.n.	r.n.	r.n.	r.n.	r.n.	-0,748	r.n.	r.n.	r.n.
ZPO							0,823	r.n.	r.n.	0,802	r.n.	r.n.	r.n.	0,834*
ZPR								r.n.	0,943*	0,840*	r.n.	r.n.	r.n.	0,862*
ZPN									r.n.	r.n.	r.n.	-0,842*	-0,877*	r.n.
PRu										0,732	r.n.	r.n.	r.n.	0,757
O _p											r.n.	r.n.	r.n.	0,792
T ₂₄												r.n.	r.n.	r.n.
T ₇₂													0,914*	r.n.
ZT														r.n.

ZB – zawartość białka, Gr₉₅ – przesiew przez sito 95 μm , W_M – wodochłonność, Max_{lep} – maksymalna lepkość kleiku skrobiowego, T_k – temperatura końcowa kleikowania skrobi, LO – liczba opadania, ZPO – zawartość pentozańców ogółem, ZPR – zawartość pentozańców rozpuszczalnych, ZPN – zawartość pentozańców nierozpuszczalnych, PRu – udział pentozańców rozpuszczalnych w zawartości pentozańców ogółem, O_p – objętość 100g pieczywa, T₂₄ – twardość miękkiszu chleba po 24 godzinach po wypieku, T₇₂ – twardość miękkiszu chleba po 72 godzinach po wypieku, ZT – zwiększenie twardości miękkiszu chleba podczas przechowywania, W_{mp} – wilgotność miękkiszu chleba, r.n. – różnice nieistotne statystycznie

WNIOSKI

Badane próbki mąki żytniej typ 1400 były zróżnicowane pod względem wszystkich omawianych wyróżników jakościowych, co wpłynęło na zróżnicowanie właściwości otrzymanych chlebów żytnich. Większość badanych próbek mąki cechowała się liczbą opadania powyżej 200 s, świadczącą o niskiej aktywności enzymów amylolitycznych. Chleby o wysokiej objętości i wilgotności otrzymano z próbek mąki żytniej charakteryzujących się wysoką wodochłonnością, wysoką zawartością pentozanów ogółem i rozpuszczalnych oraz wysokim udziałem pentozanów rozpuszczalnych. Na twardość pieczywa jak i jej zwiększenie podczas przechowywania chleba największy wpływ miała zawartość pentozanów nierozpuszczalnych i maksymalna lepkość kleiku skrobiowego. Chleby otrzymane z próbek mąki o wyższej maksymalnej lepkości kleiku skrobiowego i większej zawartości pentozanów nierozpuszczalnych były mniej twarde i cechowały się mniejszym przyrostem twardości podczas przechowywania pieczywa. Ocena wartości wypiekowej mąki żytniej wyłącznie na podstawie oceny właściwości układu skrobiowo-amylolitycznego nie jest obecnie wystarczająca do prognozowania jakości uzyskanego z niej pieczywa. Badania wartości wypiekowej mąki żytniej powinny zostać rozszerzone o badania zawartości pentozanów.

PIŚMIENNICTWO

1. Arendt E., Ryan Liam A.M., Fabio D.-B. (2007). Impact of sourdough on the texture of bread. *Food Microbiol.*, 24, 165-174
2. Beck M., Jekle M., Selmaier P.L., Koehler P., Becker T. (2011). Rheological properties and baking performance of rye dough as affected by transglutaminase. *J. Cereal Sci.*, 54, 29-36
3. Biliaderis C.G., Izydorczyk M.S., Rattan O. (1995). Effect of arabinoxylans on bread-making quality of wheat flours. *Food Chem.*, 53, 165-171
4. Blazek J., Copeland L. (2008). Pasting and swelling properties of wheat flour and starch in relation to amylose content. *Carbohydr. Polym.*, 71, 380-387
5. Borowy T. (2015). Wartość technologiczna i żywieniowa ziarna żyta. *Przegl. Zboż.-Młyn.*, 2, 3-6
6. Bucsella B., Molnár D., Harasztos A.H., Tömösközi S. (2016). Comparison of the rheological and end-product properties of an industrial aleurone-rich wheat flour, whole grain wheat and rye flour. *J. Cereal Sci.*, 69, 40-48
7. Buksa K. (2014). Komponowanie składu mąki żytniej służącej do wypieku modelowych

- chlebków żytnich metodą bezpośrednią. *Żywność Nauka Technologia Jakość*, 2 (93), 175-189
8. Buksa K., Nowotna A., Praznik W., Gambuś H., Ziobro R., Krawontka J. (2010). The role of pentosans and starch in baking of wholemeal rye bread. *Food Res. Int.*, 43, 2045-2051
 9. Buksa K., Nowotna A., Gambuś H. (2012). Wpływ dodatku preparatu pentozanowego na właściwości ciasta i chleba z mąki żytniej. *Acta Agroph.*, 19(1), 7-18
 10. Buksa K., Nowotna A., Ziobro R., Gambuś H. (2015). Rye flour enriched with arabinoxylans in rye bread making. *Food Sci. Technol. Int.*, 21(1), 45-54
 11. Cleemput G., Roels S.P., Van Oort M., Grobet P.J., Delcour J.A. (1993). Heterogeneity in the structure of water-soluble arabinoxylans in European wheat flour of variable bread-making quality. *Cereal Chem.*, 70(3), 324-329
 12. Cyran M., Cygankiewicz A. (2004). Variability in the content of water-extractable and water-unextractable non-starch polysaccharides in rye flour and their relationship to baking quality parameters. *Cereal Res. Commun.*, 32(1), 143-150
 13. Cyran M.R., Dynkowska W.M. (2014). Mode of endosperm and wholemeal arabinoxylans solubilisation during rye breadmaking: Genotypic diversity in level, substitution degree and macromolecular characteristics. *Food Chem.*, 145, 356-364
 14. Drakos A., Malindretou K., Mandala I. (2017). Protein isolation from jet milled rye flours differing in particle size. *Food Bioprod. Process*, 104, 13-18
 15. Fadel A., Ashworth J., Plunkett A., Mahmoud A.M., Ranneh Y., Li W. (2018). Improving the extractability of arabinoxylans and the molecular weight of wheat endosperm using extrusion processing. *J. Cereal Sci.*, 84, 55-61
 16. Fabritius M., Gates F., Salovaara H., Autio K. (1997). Structural changes in insoluble cell walls in wholemeal rye doughs. *LWT-Food Sci. Technol.*, 30, 367-372
 17. Gąsiorowski H. (1994). *Żyto. Chemia i technologia*. Poznań: PWRiL
 18. Gräber S. (1999). Influence of enzyme treatment on the rheology of the rye doughs. *Nahrung*, 43(4), 249-252
 19. Hashimoto S., Shogren M.D., Pomeroy Y. (1987). Cereal pentosans. Their estimation and significance. I. Pentosans in wheat and milled wheat products. *Cereal Chem.*, 64(1), 30-34
 20. He H., Hosney R.C. (1991). Gas retention of different cereal flour. *Cereal Chem.*, 68(4), 334-336
 21. Izydorczyk M.S., Biliaderis C.G. (1992). Effect of molecular size on physical properties of wheat arabinoxylans. *J. Agric. Food Chem.*, 40, 581-588
 22. Izydorczyk M.S., Biliaderis C.G. (1995). Cereal arabinoxylans: advances in structure and

- physicochemical properties. Carbohydr. Polym., 28(1), 33-48
23. Jaekel L.Z., Silva C.B., Steel C., Change Y.K. (2012). Influence of xylanase addition on the characteristics of loaf bread prepared with white flour or whole grain wheat flour. Cienc. Tecnol. Alime., 32(4), 844-849
24. Jurga R. (2005). Wpływ stopnia rozdrobnienia (granulacji) mąki na jej właściwości wypiekowe. Przegl. Zboż.-Młyn., 12, 13
25. Kiryłuk J., Konieczna E., Makowska A. (2010). Wpływ sposobu łączenia produktów przemiału ziarna żyta na ich skład chemiczny. Przegl. Zboż.-Młyn., 3, 34-37
26. Kučerová J. (2009). Effect of location and year on technological quality and pentosans content in rye. Czech J. Food Sci., 27(6), 418-424
27. Kühn M.C., Grosch W. (1989). Baking functionality of reconstituted rye flours having different nonstarchy polysaccharide and starch contents. Cereal Chem., 66(3), 149-154
28. Makowska A., Szwengiel A., Kubiak P., Tomaszewska-Gras J. (2014). Characteristic and structure of starch isolated from triticale. Starch/Stärke, 6, 895-902
29. Michalska A., Ceglińska A., Zieliński H. (2007). Bioactive compounds in rye flours with different extraction rates. Eur. Food Res. and Technol., 225, 545-551
30. Ostasiewicz A., Zaręba D., Ceglińska A. (2010). Wpływ probiotycznych szczepów bakterii fermentacji mlekowej *Lactobacillus acidophilus* La-5 na jakość chleba żytniego. Bromatol. Chem. Toksykol., XLIII, 2, 176-183
31. Pejcz E., Spychaj R., Gil Z. (2020). Technological methods for reducing the content of fructan in rye bread. Eur. Food Res. Technol., 246, 1839-1846
32. PN-A-74015:1973 Przetwory zbożowe – Oznaczanie stopnia rozdrobnienia
33. PN-A-74032:2002 Przetwory zbożowe – Mąka żytnia
34. PN-A-74108:1996 Pieczywo – Metody badań
35. PN-EN ISO 2171:2010 Ziarno zbóż, nasiona roślin strączkowych i ich przetwory – Oznaczanie zawartości popiołu metodą spalania
36. PN-EN ISO 3093:2010 Pszenica, żyto i mąki z nich uzyskane, pszenica durum i semolina – Oznaczenie liczby opadania metodą Hagberga-Pertena
37. PN-ISO 7973:2001 Ziarno zbóż i przetwory zbożowe – Oznaczanie lepkości mąki – Metoda z zastosowaniem amylografu
38. PN-EN ISO 20483:2007 Ziarno zbóż i nasiona roślin strączkowych - Oznaczenie zawartości azotu i przeliczenie na zawartość białka – Metoda Kjeldahla
39. PN-ISO 5530-1:1999 Mąka pszenna - Fizyczne właściwości ciasta - Część 1: Oznaczanie wodochłonności i właściwości reologicznych za pomocą farinografu

40. Poutanen K., Katina K., Heiniö R.-L. (2014). Rye. W: Bakery Products Science and Technology, second edition, John Wiley & Sons
41. Ratnayake W.S., Jackson D.S. (2006). Gelatinization and solubility of corn starch during heating in excess water: new insights. *J. Agr. Food Chem.*, 54, 3712-3716
42. Rocznik Statystyczny Rolnictwa 2022. Wydawnictwo GUS. Warszawa
43. Salmenkallio-Marttila M., Hovinen S. (2005). Enzyme activities, dietary fibre components and rheological properties of wholemeal flours from rye cultivars grown in Finland. *J. Sci Food Agric.*, 85, 1350-1356
44. Sapirstein H., Wu Y., Koksel F., Graf R. (2018). A study of factors influencing the water absorption capacity of Canadian hard red winter wheat flour. *J. Cereal Sci.*, 81, 52-59
45. Słowik E. (2005). Właściwości technologiczne i metody oceny żyta. *Przegl. Piek. i Cuki.* 3, 6-9
46. Słowik E. (2011) Jakie przemiany zachodzą podczas fermentacji kwasowej ciasta żytniego? *Przegl. Piek. i Cuki.*, 4, 16-17
47. Stępniewska S. (2017). Wartość wypiekowa krajowych mąk żytnich o niskiej zawartości popiołu. *Acta Agrophys.*, 24(2), 341-353
48. Stępniewska S. (2019). Ocena wartości wypiekowej mąki żytniej typ 720 wyprodukowanej w krajowych młynach przemysłowych. *Przegl. Zbożowo-Młynarski*, 1, 22-27
49. Stępniewska S., Słowik E., Cacak-Pietrzak G., Romankiewicz D., Szafrńska A., Dziki D. (2018). Prediction of rye flour baking quality based on parameters of swelling curve. *Eur. Food Res. Technol.*, 244(6), 989-997
50. Stępniewska S., Waleed H.H., Szafrńska A., Cacak-Pietrzak G., Dziki D. (2019). Procedures for breadmaking quality assessment of rye wholemeal flour. *Foods*, 219, 8(8), 331
51. Stępniewska S., Cacak-Pietrzak G., Szafrńska A., Ostrowska-Ligęza E., Dariusz D. (2021). Assessment of the starch-amylolytic complex of rye flours by traditional methods and modern one. *Materials*, 14, 7603
52. Szafrńska A., Słowik E. (2014). Zmiany właściwości wypiekowych mąki żytniej pod wpływem dodatku alfa-amylazy. *Acta Agrophys.*, 21(2), 233-245
53. Verwimp T., Courtin C.M., Delcour J.A. (2012). Rye constituents and their impact on rye processing. W: Food Biochemistry and Food Processing. John Wiley & Sons, Inc.
54. Vinkx C.J.A., Delcour J.A. (1996). Rye (*Secale cereal* L.) arabinoxylans: a critical review. *J. Cereal Sci.* 24, 1-14

WPŁYW CZYNNIKÓW GEOGRAFICZNYCH NA STRUKTURĘ AGRARNĄ I STRUKTURĘ RAS ZWIERZĄT RZEŹNYCH W REGIONACH GÓRSKICH I PODGÓRSKICH W POLSCE

Karol Borzuta, Dariusz Lisiak, Piotr Janiszewski, Eugenia Grześkowiak

Instytut Biotechnologii Przemysłu Rolno-Spożywczego im. prof. Wacława Dąbrowskiego
Państwowy Instytut Badawczy
Pracownia Badania Surowców i Produkcji Rzeźnianej
ul. Głogowska 239, 60-111 Poznań

karol.borzuta@ibprs.pl

Otrzymano: 5 marca 2023

Poprawiono: 6 kwietnia 2023

Zaakceptowano: 11 kwietnia 2023

Streszczenie

Celem opracowania jest geograficzna charakterystyka obszarów górskich i podgórskich w Polsce, jako terenów o dużym potencjale rolniczej produkcji ekologicznej z możliwością rozwoju lokalnego rynku zbytu. Zdefiniowano pojęcia terenów górskich i podgórskich, na których przychody z produkcji rolniczej uzyskały przywileje podatkowe. Opisano cechy geograficzne zasobów rolniczych obszarów sześciu województw tj.: podkarpackiego, małopolskiego, śląskiego, dolnośląskiego, opolskiego i świętokrzyskiego. Scharakteryzowano działanie rynku lokalnego, strukturę użytków rolnych, strukturę hodowanych ras zwierząt lokalnych oraz strukturę zakładów ubojowych. Z analizy materiału wyłania się obraz terenów wybitnie przystosowanych do prowadzenia ekologicznej produkcji rolniczej, szczególnie w zakresie produkcji mięsa o cechach prozdrowotnych.

Słowa kluczowe: tereny górskie i podgórskie, produkcja ekologiczna, produkcja mięsa, rynek lokalny

THE INFLUENCE OF GEOGRAPHICAL FACTORS ON THE AGRARIAN STRUCTURE AND THE STRUCTURE OF SLAUGHTER ANIMAL BREEDS IN MOUNTAIN AND FOOTHILL REGIONS IN POLAND

Summary

The aim of the study is the geographical characteristics of mountain and foothill areas in Poland as a range with a high potential for organic farming, except for the development of the

local sales market. A defined concept of mountain and foothill areas where income from agricultural production is subject to tax relief. Described geographical features of agricultural resources in six voivodeships, ie: Podkarpackie, Małopolskie, Śląskie, Dolnośląskie, Opolskie and Świętokrzyskie. The operation of the local market, agricultural land infrastructure, the structure of local animal breeds and the slaughter plants were characterized. From the analysis of the material, a picture emerges of an extremely efficient method of conducting ecological construction production, especially in the field of production with health-promoting features.

Keywords: mountain and foothill areas, organic production, meat production, local market

1. Wstęp

Jak podaje Czudec [2013] jednym z głównych zadań rolnictwa górskiego jest wytwarzanie produktów rolnych i żywności zgodnie z tradycyjnymi dla gór metodami, oferując konsumentom produkty wysokiej jakości, wytwarzane tylko w lokalnym środowisku. Umożliwia to racjonalne wykorzystanie ziemi rolniczej i kapitału ludzkiego oraz uzyskiwanie dochodów z działalności rolniczej. Podstawową funkcją rolnictwa górskiego jest oddziaływanie na środowisko przyrodnicze gór, które jest najważniejszym zasobem i walorem każdego regionu górskiego. Rola tego rolnictwa polega przede wszystkim na zachowaniu i wzbogaceniu prozdrowotnych wartości przyrodniczych i klimatycznych, a także krajobrazowych gór, które mają m.in. nieocenione znaczenie dla regeneracji sił życiowych człowieka.

Istnieje zależność pomiędzy rozwojem rolnictwa górskiego a turystyką. Rozwój turystyki jest w coraz większym stopniu warunkowany zdolnością gospodarstw rolnych do tworzenia oferty turystycznej dla osób, które preferują wypoczynek w bezpośrednim kontakcie z przyrodą oraz miejscową kulturą, w tym także kulturą spożycia regionalnej żywności o wysokich walorach jakościowych i korzystnych cenach. Dlatego producenci rolni ziem górskich i podgórskich powinni szeroko rozwijać własną produkcję przetwórczą żywności, w tym mięsa i wyrobów mięsnych aby poprzez to intensyfikować turystykę oraz bezpośrednią sprzedaż swoich produktów.

Celem opracowania była geograficzna charakterystyka obszarów górskich i podgórskich w Polsce, jako terenów o dużym potencjale rolniczej produkcji ekologicznej ze szczególnym uwzględnieniem produkcji mięsa.

2. Działanie rynku lokalnego

2.1. Charakterystyka geograficzna krajowych terenów górskich i podgórskich

Zgodnie z ustaleniami Unii Europejskiej (Regulation EC no. 1257/1999) oraz zapisów krajowych (Rozporządzenie MRiRW w sprawie ONW z dn. 3 lutego 2020) do obszarów podgórskich i górskich zalicza się:

- a) Obszary podgórskie – gminy i obręby ewidencyjne w których co najmniej 50% użytków rolnych znajduje się > 350 do 500 m. n.p.m., tj. obszary które zostały wyznaczone na potrzeby ustawy z dnia 15 listopada 1984 r. o podatku rolnym
- b) Obszary górskie – gminy i obręby ewidencyjne, w których ponad połowa użytków rolnych jest położona powyżej wysokości 500 m n.p.m.

Wykaz gmin zakwalifikowanych do obszarów górskich i podgórskich znajdujących się w niekorzystnych warunkach gospodarowania (obszary ONW) prowadzą urzędy marszałkowskie poszczególnych województw. Górski obszar ONW charakteryzuje się bardzo trudnymi warunkami klimatycznymi, skracającymi okres sezonu wegetacyjnego oraz występowaniem zboczy zbyt stromych dla użycia zwykłego sprzętu mechanicznego, wymagających użycia drogiego sprzętu specjalistycznego. Powoduje to istotne zwiększenie kosztów produkcji.

Obszary podgórskie lub górskie występują w Polsce głównie na terenie województw południowych (podkarpackie, małopolskie, śląskie, opolskie, dolnośląskie) oraz w województwie świętokrzyskim.

W poszczególnych województwach można wyróżnić określone regiony górskie (Zubilewicz, 2010). W województwie podkarpackim znajdują się Polskie Bieszczady, w województwie małopolskim Tatry, Pieniny i Wyżyna Krakowsko-Częstochowska, w woj. śląskim Beskid Zachodni, w woj. opolskim Śląsk Opolski, w woj. dolnośląskim Sudety oraz w woj. świętokrzyskim Góry Świętokrzyskie.

Bieszczady – góry te to Bieszczady Zachodnie, leżące na wschód od doliny Oslawy i na południe od Sanu. Polskie Bieszczady zajmują 1550 km² i jest to jeden z większych mezoregionów górskich w kraju, którego górna granica lasu przebiega na wysokości 1200-1220 metrów n.p.m. Charakterystycznym krajobrazem Bieszczad są połoniny, miejsca wypasu owiec i bydła. Jest to obszar słabo zaludniony. Do większych miejscowości Bieszczad możemy zaliczyć Lesko, Hoczew, Baligród, Cisną, Wetlinę, Ustrzyki Górne, Ustrzyki Dolne. W Myczkowicach i Solinie spiętrzone wody Sanu i utworzono zalew o powierzchni 22 km², który ma charakter typowo rekreacyjny.

Tatry – zajmują powierzchnię w Polsce ok. 160 km². Są najwyższym masywem górskim Karpat o cechach krajobrazu alpejskiego, łączącego je pod względem budowy geologicznej, typowej rzeźby polodowcowej, klimatu i pięterowej roślinności. W Tatrach Wysokich ze stolicą w Zakopanem dużymi walorami krajobrazowymi wyróżniają się: Dolina Pięciu Stawów, Dolina Strążyska, Dolina Chochołowska, Dolina Kościeliska, Rusinowa Polana, Dolina Białki – stanowiące ulubione przez turystów szlaki wędrówkowe. W Tatrach Wysokich występują góry o wysokości pow. 2000 m n.p.m., zbudowane z twardszych magmowych skał i przez to wyższe o 300-400 metrów od gór Tatr Zachodnich.

Pieniny – stanowią wapienne pasmo skałkowe, łączące zewnętrzne Karpaty fliszowe z masywnymi, twardymi skałami Tatr. Rozciągają się na długości 35 km i mają 6-10 km szerokości. Położone są między kotliną Nowotarską, Gorcami i Beskidem Sądeckim a Magurą Spiską. Geologicznie dzielą się na Pieniny Spiskie (od Czorsztyna do Niedzicy) z najwyższym szczytem 883 metry n.p.m., Pieniny Właściwe (od zapory w Czorsztynie do Krościenka i Szczawnicy) z najwyższym punktem w masywie Trzech Koron 982 m n.p.m. i Pieniny Małe biegnące od Szczawnicy do przełęczy Rozdziele ze szczytem 1052 metry n.p.m. Pieniny są niewysokimi górami, typowymi dla uprawiana turystyki rodzinnej. Ich największą atrakcją jest przełamujący się przez wapienne skały rwący nurt Dunajca, zwany Przełomem. Zbocza góry Sokolicy i Trzech Koron leżące nad Dunajcem są bardzo strome. Potok Dunajec wypływa z okolicy Nowego Targu z połączenia wód Czarne i Białego Dunajca i ma długość 247 km. Przyjazny klimat różni się od klimatu Tatr najmniejszym zachmurzeniem w lipcu i sierpniu i największym w styczniu. Opadów mało, czasami stanowią połowę normy przewidzianej dla Tatr. Pod Czorsztynem zbudowano tamę, tworząc zbiornik retencyjny chroniący Pieniny przed zalaniem.

Wyżyna Krakowsko-Częstochowska – rozciąga się od Krakowa do Wielunia. Przeważają krajobrazy wyżynne, lekko pofałdowane, zielone ale raczej niezalesione. W wielu miejscach widoczne są tu białe skały. Wyżynę o powierzchni 2015 km² tworzy płyta wapieni z okresu górnogórskiego. Wyżyna wznosi się 300-500 metrów n.p.m., a jej najwyższy punkt to góra Janowskiego (515 m n.p.m.). Jest jednym z najbardziej burzowych obszarów kraju. Średnia liczba burz wynosi w lipcu 17 a okres burzowy trwa od połowy kwietnia do połowy września. Wzdłuż Bramy Krakowskiej biegnie rów tektoniczny o długości 40 km i szerokości 6 km, w którym założono Kraków. Ściany rowu tworzą wzniesienia o wysokości ok. 100 metrów. Północny krajobraz wyżyny tworzą wyłącznie wapienne krajobrazy. Wody powierzchniowej nie ma tu zbyt wiele, bo po opadach szybko wsiąka w glebę i zasila system wielu podziemnych korytarzy, szczelin oraz strumieni. Wyżyna zwana Jurą Krakowsko-

Częstochowską słynie także z jaskiń, których jest blisko 850, najwięcej w rejonie Ojcowa i na Płaskowyżu Częstochowskim oraz w pobliżu przełomu Działoszyńskiego Warty.

Beskid Śląski – w granicach Polski zajmuje obszar 561 km². Jest to najbardziej na zachód wysunięta część polskich Beskidów. Beskid Śląski tworzą pasma górskie Czartorii, Stożka oraz Baraniej Góry, rozdzielone doliną Wisły. Najwyższymi górami są Skrzyczne (1257 m n.p.m.) i Barania Góra (1220 m n.p.m.), spod której wypływa Wisła. Skrzyczne słynie z wielu tras narciarskich, których w okolicach Szczyrku jest ponad 60 kilometrów z 30 wyciagami. Na trasach wędrownych ze Skrzycznego znajduje się kilka jaskiń a wśród których najdłuższą jest jaskinia Malinowska (132 m) położona na szczycie Malinów koło Szczyrku. Miejscowość Wisła położona w dolinie Wisły leży na łagodnych wzgórzach, pokrytych w ponad 70% lasem. Tu zbudowano skocznię narciarską, wykorzystywaną w krajowych i międzynarodowych skokach narciarskich.

Śląsk Opolski – historyczny obszar położony w kilku regionach geograficznych: na wyniesieniu Chełm (część Wyżyny Śląskiej), w Pradolinie Wrocławskiej i na Równinie Opolskiej, na Równinie Niemodlińskiej, w dolinie Nysy Kłodzkiej oraz na Płaskowyżu Głubczyckim. Ziemia na tym obszarze w przeważającej większości jest płaska, częściowo leży w pradolinie Odry. Równe tereny oraz liczne piaski sprzyjają silnemu nagrzewaniu i unoszeniu się powietrza. Na wulkanicznym wzniesieniu między niziną i Wyżyną Śląską położona jest Góra Św. Anny.

Sudety – W Kotlinie Jeleniogórskiej leżą Karkonosze i Góry Izerskie, które stanowią najwyższą część Sudetów. Karkonosze to pasmo górskie o długości ok. 30 km (880 m n.p.m.). Po polskiej stronie zajmuje 177 km². Najwyższym szczytem Karkonoszy jest Śnieżka (1602 m n.p.m.), widoczna tylko przez 65 dni w roku z powodu zachmurzenia, o klimacie zbliżonym do podbiegunowego. Średnia temperatura roczna jest bliska 0°C. Najszybciej można dostać się w Karkonosze z Karpacza, miasta z rwącą rzeką i licznymi kaskadami. Góry Izerskie to najbardziej wysunięty na zachód fragment Sudetów, ciągnący się od Przełęczy Szklarskiej i doliny rzeki Kamiennej. Najlepszym punktem widokowym jest wysoki Kamień (1058 m n.p.m.).

Góry Świętokrzyskie – jest to niski łańcuch górski w południowo-wschodniej Polsce, w centralnej części Wyżyny Kieleckiej. Najwyższym szczytem jest Łysica tj. pasmo górskie położone na wysokości 614 m n.p.m. Inne wyższe szczyty to Przełęcz Św. Mikołaja (541 m n.p.m.), Barania Góra (427 m n.p.m.), Góra Stołowa (423 m n. p. m.). Góry Świętokrzyskie są obszarem wyjątkowym w skali europejskiej. Na niewielkiej przestrzeni obecne są tutaj skały i skamieniałości wszystkich okresów dziejów ziemi, począwszy od skał kambryjskich

z początków ery paleozoicznej a na trzeciorzędowych i czwartorzędowych skończywszy. Stolica woj. świętokrzyskiego - Kielce położone są na kilku pasmach wzgórz z różnicą wysokości wynoszącą w mieście od 260 do 408 m n.p.m. Skały osadowe stanowią większość skał budujących Góry Świętokrzyskie. Powierzchnia gór wynosi 7626 ha. Klimat różni się od otaczających regionów. Średnia temperatura roczna wynosi 6-7°C i jest ok. 2°C niższa od temperatury w Warszawie. Średnia suma opadów waha się od 650 do 900 mm rocznie. Charakterystyczne dla krajobrazu są lasy jodłowe i bukowe, tworzące Świętokrzyski Park Narodowy. Gospodarczym i turystycznym centrum regionu są Kielce.

2.2. Struktura gospodarstw rolnych

Do specyficznych cech terenów górskich mających znaczenie dla produkcji rolniczej należy według [www.dodr.pl] zaliczyć:

- krótki okres wegetacji,
- niskie temperatury oraz ich duże zróżnicowanie dobowe i okresowe,
- duże opady atmosferyczne, rosnące wraz z wysokością nad poziomem morza,
- słabe gleby, zagrożone erozją,
- zróżnicowanie nachylenia pól na stokach,
- niewielkie powierzchnie działek i ich nieregularny kształt,
- znaczne rozproszenie pól powodujące wydłużenie dróg dojazdowych,
- skumulowanie prac polowych w krótszym okresie czasu, obniżające wydajność sprzętu rolniczego,
- dłuższy okres żywienia zimowego zwierząt i konieczność przechowywania większej rezerwy pasz,
- wyższe koszty produkcji rolniczej,
- naturalny profil produkcji rolniczej (duży udział trwałych użytków zielonych, dominacja produkcji zwierzęcej, ograniczenia klimatyczno-glebowe doboru roślin uprawnych).

Obszary górskie wg ww. źródła można zdefiniować jako rodzaj obszarów wiejskich charakteryzujących się specyficznymi uwarunkowaniami fizjograficznymi i glebowo-klimatycznymi niekorzystnymi dla produkcji rolniczej i kształtującymi naturalny profil tej produkcji, oparty na trwałych użytkach zielonych i chowie przeżuwaczy oraz na ograniczonych możliwościach doboru upraw na gruntach rolnych. Produkcja rolna ma charakter dostawcy dóbr publicznych i podtrzymuje żywotność tych terenów oraz ich atrakcyjność dla rozwoju turystyki wiejskiej. Są to obszary na których rolnictwo znajduje się w mniej korzystnej sytuacji produkcyjno-ekonomicznej.

Powierzchnia ogólna użytków rolnych w roku 2017 w województwach w których występują tereny podgórskie i górskie była następująca [Rocznik GUS 2017]:

Województwo	Pow. użytków rolnych, ha	Udział % w kraju
Dolnośląskie	916668	6,27
Małopolskie	564625	3,86
Opolskie	503031	3,44
Podkarpackie	568289	3,89
Śląskie	371445	2,54
Świętokrzyskie	486228	3,33
Polska	14620493	100,00

Użytki rolne w 6 województwach, w których występują obszary górskie i podgórskie stanowią 23,33% użytków rolnych w kraju. Z kolei liczba i udział gospodarstw rolnych drobnotowarowych i wielkotowarowych w 2019 roku w w/w województwach wynosiła [Rocznik GUS 2020]:

Województwo	Liczba i udział gospodarstw o użytkach rolnych do 5 ha		Liczba i udział gospodarstw o użytkach rolnych ≥ 50ha	
Dolnośląskie	28444	50,15%	3263	5,56%
Małopolskie	115654	82,54%	522	0,37%
Opolskie	12416	46,21%	1857	6,91%
Podkarpackie	107143	82,23%	996	0,76%
Śląskie	38149	70,76%	863	1,60%
Świętokrzyskie	55894	67,05%	436	0,52%

Najwięcej gospodarstw drobnotowarowych do 5 ha występuje w woj. małopolskim i podkarpackim (ok. 82% gospodarstw w województwie), znacznie mniej w województwach opolskim i dolnośląskim (ok. 50%). Najmniej gospodarstw wielkotowarowych pow. 50 ha znajduje się w województwach małopolskim, świętokrzyskim i podkarpackim (poniżej 1%). Dla porównania w woj. wielkopolskim o terenach typowo nizinnych liczba i udział gospodarstw drobnotowarowych wynosi odpowiednio 46920 i 38,14% oraz wielkotowarowych powyżej 50 ha 4530 i 3,68%. W województwie opolskim ilość gospodarstw zmniejszyła się w porównaniu z latami ubiegłymi, o ok. 10%, natomiast największy spadek ilości gospodarstw rolnych zanotowano w województwie śląskim [Spis Rolny 2020].

Podstawowym zasobem określającym możliwości działania każdego gospodarstwa rolnego jest powierzchnia użytków rolnych. Wielkość tego zasobu wpływa w dużym stopniu na wybór kierunków produkcji rolniczej, ma związek z poziomem intensywności, siłą

ekonomiczną i wielkością dochodów gospodarstwa. W rejonach górskich występują różne struktury gospodarstw rolnych. W województwie podkarpackim średnia powierzchnia użytków rolnych wynosi 4,5 ha natomiast na obszarach górskich i podgórskich jest większa i wynosi odpowiednio 16,8 i 6,5 ha [Czudec 2013]. Przeciętne gospodarstwo w gminach górskich dysponuje w woj. podkarpackim większymi zasobami ziemi rolniczej niż gospodarstwa pozostałe, a nawet gospodarstwa o średniej powierzchni w kraju, która wynosi 9,8 ha. Potencjalnie zatem gospodarstwa górskie w Bieszczadach i Beskidzie Niskim mają przewagę nad gospodarstwami pozostałych grup, bo dysponują większymi zasobami ziemi rolniczej. Jednak warunkiem zdobycia rzeczywistej przewagi jest racjonalne wykorzystanie tej ziemi czyli odsetek gruntów o dobrej kulturze rolnej. Najniższy odsetek takich gruntów jest w gminach górskich (74,6%,) podczas gdy w całym polskim rolnictwie jest on znacząco większy i wynosi 94,6%. Dowodzi to pośrednio o niskiej konkurencyjności rolnictwa górskiego.

Natomiast inna struktura gospodarstw rolnych występuje w woj. dolnośląskim. Struktura użytków rolnych jest tu typowa dla gór i cechuje się dużym udziałem trwałych użytków zielonych w granicach od 45% do 60% powierzchni użytków rolnych [Strategi górska www.dodv.pl]. Na terenach gmin sudeckich zlokalizowanych jest 15% wszystkich gospodarstw woj. dolnośląskiego. Są to gospodarstwa średnio o 3 ha mniejsze od przeciętnego gospodarstwa dolnośląskiego, wynoszącego 17 ha użytków rolnych. Istnieje więc duża różnica w średnim areale gospodarstwa w woj. podkarpackim (4,5 ha) i dolnośląskim (17 ha) ale średnia wielkość powierzchni gospodarstw górskich jest podobna i większa od gospodarstw pozostałych.

2.3. Charakterystyka ras lokalnych zwierząt hodowlanych

Ukształtowanie terenu oraz suma opadów w terenach górskich sprzyjają wysokiemu udziałowi użytków zielonych w gospodarstwach górskich (powyżej 60% powierzchnia użytków rolnych gospodarstwa). Powinno to ukierunkować produkcję tych gospodarstw na chów bydła i owiec. Niestety aktualnie obserwuje się słabe powiązanie między wysokim udziałem trwałych użytków zielonych w gospodarstwach górskich i podgórskich a chowem zwierząt gospodarskich. Według danych Czudeca [2013] gminy górskie i podgórskie w woj. podkarpackim charakteryzowały się w 2010 roku niskim odsetkiem gospodarstw prowadzących chów zwierząt wynoszącym 26-28% gospodarstw, podczas gdy odsetek ten w całym województwie wynosił ok. 63%, a średnio w kraju ok. 58%. Podobna sytuacja występuje w woj. dolnośląskim. Charakterystyczną cechą gospodarstw górskich w Sudetach

są znaczące udziały oraz arealty trwałych użytków zielonych oraz niska obsada inwentarza żywego. Pogłowie trzody chlewnej w regionie sudeckim wynosiło 7,3 szt. na 100 ha użytków rolnych, a w całym woj. dolnośląskim 31,5 szt. Natomiast obsada bydła w sztukach dużych na 100 ha użytków rolnych w tym regionie stanowiła zaledwie 55% średniej obsady krajowej, która w 2019 r. wynosiła 47 sztuk, a np. w Wielkopolsce 81,9 szt. [Rocznik Statystyczny GUS 2020]. W przeszłości popularnym kierunkiem produkcji w górach był chów owiec. Obecnie jednak ma on coraz mniejsze znaczenie, co wiąże się z katastrofalnym spadkiem pogłowia owiec w kraju na przestrzeni ponad dwudziestu lat z ok. 5 mln sztuk w 1986 roku [Klepacka-Kołodziejska, 2009] do 286 tys. sztuk w 2009 roku [Rocznik statystyczny RP, 2010]. Niski odsetek obserwuje się także w chowie bydła górskiego [Czudec, 2013], co ma również związek z systematycznym zmniejszeniem się pogłowia bydła w kraju, np. w 1995 roku wynosiło ono 7,3 mln sztuk [Rocznik Statystyczny, 2015] a w 2009 roku 5,7 mln sztuk [Rocznik Statystyczny RP, 2010]. Te same zależności występują w chowie trzody chlewnej. Jest to z całą pewnością dowód na zanikanie tradycyjnej funkcji rolnictwa górskiego i dalsza jego marginalizacja jako dziedziny działalności gospodarczej w górach [Czudec, 2013; Musiał i Wojewodzik, 2008; Kata, 2010]. Aby temu zapobiec należy stworzyć rynek własnych produktów mięsnych, charakteryzujących się specyficzną jakością i ekologicznym sposobem wytwarzania surowców mięsnych oraz niezawodną ich identyfikacją. Produkty te powinny być kierowane do sprzedaży bezpośredniej z gospodarstwa w ramach RHD (rolniczego handlu detalicznego).

Drastyczny spadek pogłowia owiec stworzył zagrożenie egzystencji niektórych ras. O skali zagrożenia świadczy fakt, że na 29 ras i odmian owiec użytkowych w kraju w 2001 roku aż 13 ras objęto programem odnowy zasobów genetycznych [Gawlik 2008]. Wśród ras objętych programem znajdują się wrzosówka, świniarka, owca górska, cakiel podhalański, polska owca pogórza, merynos starego typu oraz czarnogłówka, które hodowane są na terenach górskich [Kawęcka 2018]. Owce w Karpatach Polskich wywodzą się od cakli wołoskich. W miarę jak ustawał napływ do Karpat ludności wołoskiej, zamieszkującej pierwotnie Półwysep Bałkański, lokalne warunki przyrodnicze i gospodarcze ukształtowały dwa typy cakla na terenach Karpat Polskich. Na Huculszczyźnie i w Beskidach typ ten był bliższy caklom wołoskim, a w Tatrach i na Podhalu odbiegał od dawnego typu. Rozróżniono zatem dwa typy cakla: beskidzki hodowany w Beskidach i tatrzański zwany podhalańskim, występujący w Tatrach i na Podhalu [Kawęcka 2018]. Cakle beskidzkie były większe, zbliżone do wołoskich, o przewadze użytkowości mięsnej, cakle podhalańskie były znacznie mniejsze, o zdecydowanie mlecznej użytkowości. Proces doskonalenia cakla

doprowadził w konsekwencji do utworzenia uszlachetnionej jego odmiany – polskiej owcy górskiej, w której główną rolę odegrał Instytut Zootechniki. Cakiel podhalański przestał być wyróżniany jako odrębna rasa i został razem z owcami uszlachetnionymi objęty nazwą polska owca górka. Cakiel podhalański i owca górka to zwierzęta wszechstronnie użytkowe. Mięso tych owiec jest bardzo smaczne, cenione przez konsumentów. Wełna i skóry są wykorzystywane do wyrobu różnego rodzaju odzieży (tradycyjne stroje góralskie, kożuchy, swetry, skarpety, pantofle) a także koców czy ozdobnych skór. Obok produktów mleczarskich do krajowej Listy Produktów Tradycyjnych wypisane są: jagnięcina beskidzka (woj. śląskie) i jagnięcina podhalańska (woj. małopolskie). Wyniki wielu badań naukowych wykazały, że zwierzęta karmione zielonkami dostarczają mięsa o mniejszej zawartości tłuszczu oraz o korzystniejszym składzie kwasów tłuszczowych [Kawęcka 2018]. Pod względem zawartości nienasyconego kwasu tłuszczowego CLA, o właściwościach prozdrowotnych (działanie antymiażdżycowe, antynowotworowe, stymulujące układ odpornościowy, zapobiegające otyłości) jagnięcina jest najbogatszym jego źródłem wśród mięsa innych gatunków zwierząt gospodarskich [Patkowska i in. 2000]. Najwięcej L-karnityny tj. substancji witamin o pochodnej, regulującej gospodarkę lipidową, obniżającej poziom cholesterolu, zapobiegającej miażdżycy i otyłości oraz korzystnie wpływającej na układ nerwowy, znajduje się w produktach uzyskanych od owiec [Bodkowski i in. 2011].

Produkty spożywcze uzyskiwane od polskiej owcy górskiej, barwnych owiec górskich i caki podhalańskich utrzymywanych na terenie Tatr i Beskidów na naturalnych nienawożonych halach i pastwiskach o różnorodnym składzie botanicznym runi, bogatym w zioła w pełni odpowiadają aktualnym wymaganiom konsumentów, poszukujących żywności smacznej i prozdrowotnej.

Po owcach kolejnym podstawowym gatunkiem zwierząt gospodarskich występującym w terenach górskich i pogórskich jest bydło. Chów bydła obejmuje głównie takie rasy jak: polskie bydło czerwone, bydło czerwono-białe, bydło simentalckie oraz w mniejszym zakresie bydło czarno-białe. Bydło rasy polskiej czerwonej stanowiło w przeszłości 25% pogłowia krajowego [Trela i in. 2018]. W powojennej Polsce było ono użytkowane w północno-wschodniej, wschodniej i południowo-wschodniej części kraju, a także na Śląsku Cieszyńskim, w części Zagłębia i Górnego Śląska. Dobre warunki chowu znalazła ta rasa także na Kielecczyźnie oraz w rejonie Rawicza w Wielkopolsce. W połowie lat sześćdziesiątych XX w. populacja bydła rasy polskiej czerwonej (PC) osiągnęła 2 mln krów. Jednak polityka państwa doprowadziła do zmniejszenia populacji krów do 190 tys. szt., co stało się w wyniku postanowień rozporządzenia Ministra Rolnictwa z 1973 r. ograniczającego

znacznie rejon użytkowania bydła tej rasy. W tej liczbie ilość użytkowanych krów wynosiła w woj. białostockim 40 tys., rzeszowskim ok. 45 tys., krakowskim ok. 100 tys., oraz ok. 5 tys., w woj. kieleckim i lubelskim. Aby zapobiec dalszemu zmniejszeniu się pogłowia tej rasy odtworzono rejon zachowawczy rodzimej rasy bydła PC w powiatach nowotarskim, nowosądeckim i limanowskim. Stan pogłowia w tym obszarze wynosił ok. 55 tys. krów. Młode bydło rzeźne rasy PC charakteryzuje się cenionymi walorami mięsnymi i w latach osiemdziesiątych oraz dziewięćdziesiątych XX w. dostarczało cennego surowca eksportowego w postaci półtuszy typu pistoletowego, kierowanego na rynek włoski. Mięso półtuszy tego typu charakteryzowało się jasną barwą i niskim pH, podstawowymi kryteriami oceny towaru [Borzuta i Gliński 1992].

Kolejną rasą cenioną jako materiał rzeźny w rejonach górskich jest bydło simentaliskie. Rejon podkarpacki był kolebką simentali i nadal dominuje w chowie i hodowli tej rasy, jest bogaty w naturalne pastwiska położone na terenach nieskażonych, ekologicznych [Choroszy i in. 2018]. Jego walory należy wykorzystać do produkcji mleka wysokiej wartości (4,17% tłuszczu i 3,45% białka, wydajność mleka w 2017 roku 6252 kg) i jego przetworów, a także do produkcji żywca wołowego specjalnej jakości. Hodowcy, doceniając produkcję żywca wołowego najczęściej wykorzystują buhaje simentaliskie do krzyżowania towarowego. Zasadne jest utrzymywanie stad bydła tej rasy użytkowanego wyłącznie w kierunku mięsnym. Kierunek ten może dostarczać wołowiny ekologicznej dobrej jakości przy maksymalnym wykorzystaniu pasz z użytków zielonych. Stada tej rasy doskonalone są przy użyciu buhajów krajowych oraz importowanych z Niemiec, Austrii i Szwajcarii. Dobrą alternatywą dla produkcji żywca wołowego jest wykorzystanie krów – matek tej rasy, gdyż wysoka mleczność matek gwarantuje dobre przyrosty cieląt rzeźnych. Łatwość wycieleń zapewnia witalne potomstwo, wysoki potencjał genetyczny i dobrą jakość mięsa, co daje w efekcie produkt wysokiej jakości, tj. wołowinę uzyskaną w sposób ekologiczny o bardzo dobrych walorach smakowych [Choroszy i in. 2018]. Polska populacja bydła tej rasy pod oceną wzrosła z 1600 sztuk o wydajności rocznej 3700 kg mleka 1995 r. do 10500 sztuk o wydajności rocznej 6252 kg. Obecna ogólna populacja bydła tej rasy liczy około 60 tys. szt.

W strukturze chowanych ras bydła na terenach górskich i podgórskich znaczącą rolę odgrywa bydło rasy czerwono-białej, o cechach rzeźnych podobnych do rasy polskiej czerwonej, mniejszą natomiast bydło rasy nizinnej czarno-białej.

Ważną populację zwierząt hodowanych na terenach górskich stanowi trzoda chlewna, a wśród niej takie rasy jak wielka biała polska, polska biała zwisłoucha, duroc, rasa puławska oraz różnego rodzaju krzyżówki. Wartość rzeźna świń tych ras jest ogólnie znana i stanowi

one podstawę dobrej jakości polskiego mięsa. Dla terenów górskich szczególne znaczenie ma rodzima rasa puławska, charakteryzująca się średnią mięsnością w populacji masowej 53,9% oraz większą marmurkowatością (zawartość tłuszczu 3-3,7% w mięśni LL), niż rasa wielka biała polska (odpowiednio 59,37% mięsa i 1-2,5% tłuszczu) [Prasow i in. 2018]. Mięso świń rasy puławskiej uchroniło się od nadmiernego odchudzania, co czyni ten surowiec lepszym w ocenie sensorycznej. Podobne cechy posiada mięso złotnickiej pstrej – rodzimej rasy polskiej, której pogłowie jest obecnie zbyt małe [Szulc i Skrzypczak 2015].

2.4. Struktura zakładów ubojowych

Według danych Inspekcji Jakości Handlowej Artykułów Rolno-Spożywczych liczba zakładów ubojowych w województwach, w których znajdują się tereny górskie i podgórskie aktualnie wynosi (2021):

Województwo	Zakłady o dużej zdolności ubojowej	Zakłady o małej zdolności ubojowej	Zakłady ogółem
Dolnośląskie	1	5	6
Opolskie	4	12	16
Śląskie	12	5	17
Małopolskie	21	14	35
Podkarpackie	10	29	39

Najgęstsza sieć zakładów ubojowych występuje w województwach podkarpackim i małopolskim, najmniejsza natomiast w woj. dolnośląskim. Do zakładów o małej zdolności ubojowej zalicza się ubojnie, których tygodniowy ubój nie przekracza 200 szt. świń lub 35 szt. bydła. W zakładach tych nie prowadzi się klasyfikacji poubojowej tusz systemem SEUROP. Klasyfikację tę prowadzą ubojnie o większej zdolności ubojowej, a wyniki tej klasyfikacji przedstawiono w tab. 1 i 2.

Tabela 1. Struktura klas SEUROP tuczników ubitych w rzeźniach województw górskich i podgórskich w 2020 r.

SEUROP class structure of fatteners slaughtered in slaughterhouses in mountain and foothill voivodeships in 2020

Województwo	Udział tusz w klasach SEUROP w %					
	S	E	U	R	O	P
Małopolskie	40,86	42,84	13,36	2,43	0,41	0,10
Podkarpackie	34,29	48,82	14,33	2,59	0,29	0,01
Śląskie	27,16	42,53	22,05	6,17	2,01	0,08
Opolskie	35,36	42,42	21,02	1,10	0,08	0,02
Średnio	34,42	44,15	17,69	3,07	0,70	0,05

Tabela 2. Struktura klas SEUROP bydła ubitego w rzeźniach województw górskich i podgórskich
SEUROP class structure of cattle slaughtered in slaughterhouses in mountain and foothill voivodeships

Województwo	Udział tusz w klasach SEUROP w %					
	S	E	U	R	O	P
Małopolskie	0,01	0,84	5,91	25,24	56,71	11,29
Podkarpackie	0,00	0,11	2,96	33,90	54,7	8,32
Śląskie	0,05	1,33	10,20	27,24	56,26	4,97
Dolnośląskie	0,00	3,78	10,84	16,93	57,55	10,90
Średnio	0,04	1,52	7,48	25,83	56,31	8,84

Udział tuczników wysokomięsnych o zawartości mięsa w tuszy powyżej 55% (klasy E i S) w województwach górskich jest wysoki i wynosi średnio ok. 78% ale jest nieco niższy od średniej krajowej, która w roku 2021 wyniosła ok. 95%. [Janiszewski 2021]. Natomiast udział klas tusz otluszczonych O i P jest, podobnie jak w kraju, marginalny i oprócz województwa śląskiego stanowi ułamek procenta populacji ubitych tuczników.

Wartość rzeźna bydła krajowego, w tym także bydła z regionów górskich reprezentuje dość niski poziom, spowodowany m.in. upowszechnieniem rasy holsztyńsko-fryzyjskiej w celu poprawy mleczności, a także niskim udziałem ras mięsnych w produkcji towarowej. Efektem tego jest słaba struktura klas bydła rzeźnego, gdyż klasy wysokomięsne tusz S i E np. buhajków i buhajów występują sporadycznie (0,2%) a najliczniejsze są tusze klas najsłabszych O i P, odpowiednio 60,3% i 8,3% [Wajda i Borzuta 2011]. Jak wynika z tabeli 2 na terenach górskich i podgórskich struktura klas jest podobna, gdyż udział klasy O wynosi średnio w 4 województwach ok. 56% a klasy P ok. 9%. Częściej natomiast występuje w województwie dolnośląskim i śląskim bydło klas najlepszych S i E (odpowiednio 3,78% i 1,33%), na co niewątpliwie wpływa większy udział rasy simental w strukturze skupu. We wszystkich kategoriach bydła najliczniej występują tusze klasy 3 tj. tusze średnio otluszczone [Janiszewski i in. 2015].

Podsumowanie

W podsumowaniu należy stwierdzić, że w sześciu województwach krajowych występują tereny górskie i podgórskie o zróżnicowanej budowie geologicznej i bardzo trudnym lub trudnym użytkowaniu rolniczym. Użytki rolne stanowią na tych obszarach ok. 23% użytków rolnych w kraju i nadają się szczególnie do rozwoju produkcji ekologicznej. W przeważającej skali występuje tu struktura gospodarstw drobnotowarowych do 5 ha, która w poszczególnych

województwach obejmuje od ok. 50 do 80% gospodarstw rolnych. Analizowane tereny nadają się szczególnie do produkcji ekologicznej mięsa o właściwościach prozdrowotnych ze względu na bogatą, różnorodną bazę paszową i występujące lokalnie krajowe rasy zwierząt rzeźnych. Rozwojowi ekologicznej produkcji mięsa sprzyja obecna duża baza ubojowa zwierząt, obejmująca 113 rzeźni w 5 województwach (oprócz woj. świętokrzyskiego).

Praca finansowana w ramach projektu: „Opracowanie dedykowanych technologii przetwórstwa żywności pochodzenia zwierzęcego na terenach podgórskich, w tym wytwarzania wyrobów szlachetnych oraz optymalizacji ekonomiki rozbioru tuszy. Ministerstwo Rolnictwa i Rozwoju Wsi.

PIŚMIENNICTWO

1. Bodkowski R., Patkowska-Sokoła B., Nowakowski N., Jamroz D., Jańczak M. Produkty pochodzące od przeżuwaczy – najważniejsze źródło L-karnityny w diecie człowieka. (<http://ptz>)
2. Borzuta K., Gliński W. (1992). Porównanie jakości krajowego mięsa wołowego kierowanego na eksport z mięsem konkurencyjnym. *Gospodarka Mięsna*, 4, 13-16
3. Choroszy B., Trela J., Choroszy Z., Miejski A., Stachyra M., Beneś E. (2018). Miejsce rasy simentalskiej w Polsce – historia i perspektywy. Monografia, Kraków, Instytut Zootechniki PIB, 58-68
4. Czudec A. (2013). Wielofunkcyjność rolnictwa górskiego i podgórskiego (na przykładzie Bieszczadów i Beskidu Niskiego). *Polish Journal of Agronomy*, 13, 3-9
5. Janiszewski P., Borzuta K., Lisiak D., Powalowski K., Samardakiewicz Ł. (2015). Wpływ klas uformowania i otluszczenia tusz na pH mięsa wołowego oraz charakterystyka struktury skupu bydła krajowego. *Roczniki PTZ*, 11, 4, 65-74
6. Janiszewski P., Grześkowiak E., Lisiak D., Borys B., Borzuta K., Lisiak B. (2021). Evaluation of the meat traits of lambs of Polish native breeds. *Annals of Anim. Sci.*, vol. 21, nr 1, 347 - 360
7. Kata R. Sytuacja ekonomiczno-finansowa gospodarstw rolnych położonych w regionie górskim. W: Czynniki kształtujące konkurencyjność regionu górskiego (na przykładzie Karpat), red. Czudec A. Wyd. UR Rzeszów, Rzeszów, ss. [2]48
8. Kawęcka A. (2018). Cakle w Karpatach Polskich. 100 lat polskiej hodowli zwierząt gospodarskich w Karpatach. Monografia, Kraków, Instytut Zootechniki PIB, 93-105

9. Klepacka-Kołodziejska D. (2009). Gospodarka owczarska na terenach górskich jako przykład wielofunkcyjnego rolnictwa. *Więś i Rolnictwo*, Nr 4 (145), Kwartalnik, 97-115
10. Musiał W., Wojewodziec T. (2008). Przesłanki upadku ekonomicznego gospodarstw rolnych na obszarach górskich. *Problemy zagospodarowania Ziemi Górskich*, PAN, Komitet Zagospodarowania Ziemi Górskich, Kraków, 55, 19-32
11. Patkowska-Sokoła B., Bodkowski R., Jędrzejczak J. Zawartość sprzężonych dniów kwasu linolowego (SKL) w mięsie i mleku różnych gatunków zwierząt. *Zesz. Nauk. AR Wrocław*, konf. XXX, 399, 252-266
12. Prasow M., Babicz M., Domaradzki P., Skąlecki P., Litwinczuk A., Kaliniak A. (2018). Wartość rzeźnia i jakość mięsa świń ras lokalnych w Polsce. *Journal of Animal Science, Biology and Bioeconomy*, vol. XXXVI (1), 5-17
13. Regulation (EC) no. 1257/1999 in the Member States of the European Union. 2006. Report, Institute for European Environmental Policy, August 2006 r.
14. Rocznik Statystyczny RP, GUS, 2005
15. Rocznik Statystyczny RP, GUS, 2010
16. Rocznik Statystyczny RP, GUS, 2015
17. Rocznik Statystyczny RP, GUS, 2017
18. Rocznik Statystyczny RP, GUS, 2020
19. Rozporządzenie MRiRW w sprawie ONW (obszarów o niekorzystnych warunkach gospodarowania) z dn. 3 lutego 2020 r. (*Dziennik Ustaw RP* W-wa 17 lutego 2020, poz. 253)
20. Strategia góraska (www.dodr.pl)
21. Treła J., Majewska A., Kowol P., Rasiński W., Drożdż W. (2018). Tradycje chowu i hodowli bydła polskiego czerwonego – stan i perspektywy. Monografia, Kraków, Instytut Zootechniki PIB, 27-57
22. Zubilewicz T. (2010). Polska na pogodę i niepogodę. Wydawnictwo Publikat S.A. Poznań

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 polskimi 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 (**Keywords**)

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.

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