

Sylvia Sady

WYTŁOKI ARONII JAKO KOMPONENT INNOWACYJNYCH OSŁONEK JADALNYCH



WYDAWNICTWO UEP



UNIwersytet
EKONOMICZNY
W POZNANIU

Sylvia Sady

**WYTŁOKI ARONII JAKO KOMPONENT
INNOWACYJNYCH OSŁONEK JADALNYCH**

Sylwia Sady

WYTŁOKI ARONII JAKO KOMPONENT INNOWACYJNYCH OSŁONEK JADALNYCH



WYDAWNICTWO UEP



UNIWERSYTET
EKONOMICZNY
W POZNANIU

Poznań 2023

Komitet Redakcyjny

*Barbara Borusiak, Szymon Cyfert, Bazyli Czyżewski, Aleksandra Gawel (przewodnicząca),
Tadeusz Kowalski, Piotr Lis, Krzysztof Malaga, Marzena Remlein,
Eliza Szybowicz (sekretarz), Daria Wieczorek*

Recenzja

Małgorzata Krzywonos

Projekt okładki i layout

Piotr Gołębiak

Redakcja i korekta

Halina Jankowska-Fejnas

 Sylwia Sady

Sugerowane cytowanie: Sady, S. (2023). *Wytłoki aronii jako komponent innowacyjnych osłonek jadalnych*. Wydawnictwo Uniwersytetu Ekonomicznego w Poznaniu.
<https://doi.org/10.18559/978-83-8211-172-9>

Publikacja dofinansowana ze środków budżetu państwa w ramach programu Ministra Edukacji i Nauki pod nazwą Doskonała nauka, nr projektu DNM/SP/548380/2022, kwota dofinansowania 16 526,40 zł, całkowita wartość projektu 18 484,40 zł.

ISBN: 978-83-8211-171-2

e-ISBN: 978-83-8211-172-9

<https://doi.org/10.18559/978-83-8211-172-9>

<https://doi.org/10.18559/978-83-8211-172-9-summary>

© Copyright by Uniwersytet Ekonomiczny w Poznaniu
Poznań 2023



Ta książka jest udostępniana na licencji Creative Commons – Uznanie autorstwa-
-Użycie niekomercyjne-Bez utworów zależnych 4.0 Międzynarodowe

WYDAWNICTWO UNIwersytetu EKONOMICZNEGO W POZNANIU

ul. Powstańców Wielkopolskich 16, 61-895 Poznań

tel. 61 854 31 54, 61 854 31 55

www.wydawnictwo.ue.poznan.pl, e-mail: wydawnictwo@ue.poznan.pl

adres do korespondencji: al. Niepodległości 10, 61-875 Poznań

Skład: Garmond Oficyna Wydawnicza Piotr Osiecki

Druk: Zakład Graficzny Uniwersytetu Ekonomicznego w Poznaniu
ul. Towarowa 53, 61-896 Poznań, tel. 61 854 38 06, 61 854 38 03

Spis treści

Wykaz skrótów	7
Wstęp	9
1. Innowacje produktowe na rynku żywności	13
1.1. Istota innowacji produktowych	13
1.2. Uwarunkowania procesu zarządzania innowacjami na rynku żywności	17
1.3. Osłonki jako innowacyjny produkt na rynku żywności	22
1.4. Uwarunkowania procesu projektowania osłonek jadalnych	29
2. Produkty uboczne przetwórstwa owoców jako źródło substancji o cechach prozdrowotnych	33
2.1. Uwarunkowania zagospodarowania produktów ubocznych przetwórstwa owoców	33
2.2. Kierunki wykorzystania produktów ubocznych przetwórstwa owoców	40
2.3. Wytłoki aronii jako źródło substancji o cechach prozdrowotnych	42
3. Proces pozyskania substancji o cechach prozdrowotnych	51
3.1. Techniki pozyskania substancji o cechach prozdrowotnych	51
3.2. Metody projektowania procesu ekstrakcyjnego	59
4. Badania własne	65
4.1. Cel monografii, hipotezy badawcze, zakres badań	65
4.2. Materiał badawczy, odczynniki i aparatura laboratoryjna	69
4.3. Metodyka badawcza	71
4.3.1. Przygotowanie ekstraktów z wytlóków aronii i optymalizacja procesu ekstrakcji	71
4.3.2. Rozdział frakcyjny ekstraktów i analiza wyizolowanych frakcji	79
4.3.3. Opracowanie i techniczne testowanie koncepcji eksperymentalnych osłonek jadalnych	82
4.3.4. Przeprowadzenie indywidualnego wywiadu pogłębionego	88
4.3.5. Analiza statystyczna wyników	89
5. Wyniki badań i ich ocena	93
5.1. Charakterystyka surowca do badań	93
5.2. Wstępna ocena właściwości przeciwutleniających wytlóków aronii	95

5.3. Optymalizacja procesu ekstrakcji wycieków aronii	99
5.4. Rozdział frakcyjny ekstraktów z wycieków aronii oraz ocena właściwości przeciwutleniających uzyskanych frakcji	108
5.5. Wstępna analiza jakościowa otrzymanych frakcji ekstraktów z wycieków aronii	113
5.6. Ocena technicznej koncepcji jadalnych osłonek z dodatkiem ekstraktu z wycieków aronii	118
5.7. Ocena oszacowanych bezpośrednich kosztów wytworzenia osłonek z dodatkiem ekstraktu z wycieków aronii	127
5.8. Ocena postrzegania rozwoju innowacyjnych osłonek jadalnych przez podmioty z badanych branż	129
5.9. Podsumowanie	135
6. Wnioski	141
Załączniki	145
Bibliografia	157
Spis tabel	178
Spis rysunków	180
Chokeberry pomace as a component of innovative edible casings (summary)	182

Wykaz skrótów

- ABTS – 2,2'-azynobis-3-etylobenzotiazolino-6-sulfonian diamonowy
- DOE – projektowanie eksperymentalne
- DPPH – 2,2-difenylo-1-pikrylhydrazyl
- ESI – jonizacja przez elektrorozpraszanie
- GAE – kwas galusowy
- GOZ – gospodarka o obiegu zamkniętym
- HESI – elektrorozpraszanie z podgrzewaniem strumienia
- HPLC – wysokosprawna chromatografia cieczowa
- IDI – indywidualne wywiady pogłębione
- IT – pułapka jonowa
- L*a*b* – system pomiaru parametrów barwy L*a*b*
- L*C*h° – system pomiaru parametrów barwy L*C*h°
- OTR – przepuszczalność tlenu
- RSM – metoda powierzchni odpowiedzi
- SEM – skaningowa mikroskopia elektronowa
- s.m. – sucha masa
- T – transmitacja optyczna
- TAC – ogólna zawartość antocyjanów
- TPC – ogólna zawartość związków fenolowych
- TSC – ogólna zawartość saponin
- UPLC – ultrasprawna chromatografia cieczowa
- UV – zakres nadfioletu promieniowania elektromagnetycznego
- Vis – zakres widzialny promieniowania elektromagnetycznego
- WN – wyłoki aronii odmiany Nero
- WG – wyłoki aronii odmiany Galicjanka
- WS – rozpuszczalność w wodzie
- WVP – przepuszczalność pary wodnej
- WVTR – szybkość przenikania pary wodnej



Wstęp

We współczesnym świecie coraz większą rolę odgrywają innowacje produktowe, które z dużą częstotliwością pojawiają się na rynku produktów żywnościowych. Rozwój innowacji produktowych dla przedsiębiorców sektora spożywczego jest traktowany jako podstawowe wyzwanie, wynikające z szybko zmieniającej się mody na rynku, skracania cyklu życia większości produktów, silnej konkurencji czy zmiany stylu życia konsumentów. Innowacje produktowe stają się jednym z warunków rozwoju rynku produktów żywnościowych, zwłaszcza te, które przynoszą konsumentom wymierne korzyści. Istotnym kierunkiem, który może wpływać na efektywność i przewagę konkurencyjną przedsiębiorstwa działającego w zakresie przetwórstwa rolno-spożywczego, jest projektowanie innowacyjnych produktów ukierunkowane na wprowadzenie i upowszechnianie rozwiązań prozdrowotnych.

W ostatnich latach zaobserwowano także wyraźny kierunek badawczy ściśle związany z wytwarzaniem produktów przyjaznych środowisku. Wiele prac eksperymentalnych poświęcono poszukiwaniu i analizie naturalnych biopolimerów, które cieszą się dużym zainteresowaniem w różnych gałęziach przemysłu ze względu na takie właściwości jak nietoksyczność, biokompatybilność czy biodegradowalność. Te cechy czynią je atrakcyjnym materiałem o wielu zastosowaniach, w tym w produkcji jadalnych osłonek zabezpieczających produkty żywnościowe. Z analizy danych literaturowych wynika, że osłonki jadalne na bazie naturalnych biopolimerów charakteryzują się pewnymi ograniczeniami użytkowymi. Jednym ze sposobów poprawiających właściwości użytkowe jadalnych osłonek może być sieciowanie polimerów z wykorzystaniem związków bioaktywnych o właściwościach przeciwutleniających.

W ideę gospodarki o obiegu zamkniętym wpisuje się między innymi minimalizowanie odpadów poprzez ponowne użycie, recykling i wdrożenie pełnego odzysku, w tym przede wszystkim traktowanie powstałych odpadów jako potencjalne źródło surowców wtórnych. Wartościowy surowiec wtórny w kształtowaniu prozdrowotnych właściwości żywności stanowią produkty uboczne przetwórstwa owoców aronii. Wytłoki aronii są naturalnym źródłem związków bioaktywnych. Wiele prac badawczych poświęcono ocenie potencjału owoców aronii i wytłoczonych z nich soków. Znacznie mniejszy udział w literaturze mają badania nad właściwościami funkcjonalnymi produktów ubocznych

przetwórstwa owoców aronii, a także ich pełniejszym wykorzystaniem jako surowców wtórnych.

Podstawowym sposobem pozyskiwania substancji o cechach prozdrowotnych z produktów ubocznych jest ekstrakcja. Zarządzanie procesem ekstrakcji z wykorzystaniem statystycznych metod planowania może prowadzić do istotnego polepszenia rezultatów procesu i wpłynąć na jego aspekt technologiczny oraz ekonomiczny.

Biorąc pod uwagę rozwój rynku innowacji produktowych na rynku osłonek przeznaczonych do bezpośredniego kontaktu z żywnością oraz zrównoważone podejście do wykorzystania produktów ubocznych zgodnie z założeniami ochrony środowiska, zdefiniowano cel podjętych badań. Polega on na ocenie przydatności zastosowania ekstraktu z wyłoków aronii w opracowaniu innowacyjnych biopolimerowych, chitozanowych osłonek jadalnych o podwyższonych właściwościach użytkowych.

Treść opracowania została podzielona na sześć rozdziałów. W pierwszym przedstawiono istotę innowacji produktowych na rynku żywności oraz uwarunkowania procesu projektowania innowacji. W rozdziale tym zaprezentowano również charakterystykę osłonek jako produktu na rynku żywności i kierunki projektowania osłonek jadalnych, co stanowiło punkt wyjścia do opracowania technicznych koncepcji chitozanowych osłonek jadalnych z dodatkiem ekstraktu z wyłoków aronii. W rozdziale drugim przedstawiono znaczenie i możliwości produktów ubocznych przetwórstwa owoców w kształtowaniu jakości żywności. W tym celu omówiono uwarunkowania zagospodarowania produktów ubocznych przetwórstwa owoców i kierunki ich wykorzystania. Podano również charakterystykę aronii i jej produktów ubocznych jako źródła substancji o cechach prozdrowotnych. W rozdziale trzecim przedstawiono problematykę procesu pozyskania substancji o cechach prozdrowotnych z wykorzystaniem statystycznych metod planowania. W rozdziale czwartym zaprezentowano cel monografii, hipotezy badawcze oraz zakres badań służących osiągnięciu celu. Scharakteryzowano w nim materiał badawczy oraz wskazano odczynniki i aparaturę laboratoryjną użyte do badań. W rozdziale tym zaprezentowano także metodykę badawczą w zakresie przygotowania ekstraktów z wyłoków aronii i optymalizacji procesu ekstrakcji, analizy otrzymanych ekstraktów i ich wyizolowanych frakcji, zaprojektowania i testowania technicznych koncepcji eksperymentalnych osłonek jadalnych, przeprowadzenia indywidualnego wywiadu pogłębionego oraz analizy statystycznej wyników. W rozdziale piątym omówiono wyniki badań nad możliwościami wykorzystania wyłoków aronii jako składnika do opracowania technicznej koncepcji eksperymentalnych osłonek jadalnych o cechach przeciwutleniających oraz podsumowano rozważania. W rozdziale szóstym sformułowano wnioski wynikające z przeprowadzonych badań.





1. Innowacje produktowe na rynku żywności

1.1. Istota innowacji produktowych

W literaturze przedmiotu obserwuje się dużą rozbieżność i wieloznaczność w formułowaniu terminu „innowacja”. Pojęcie to cechuje się bowiem bardzo szerokim zakresem i różnorodnym znaczeniem. Innowacja jest opisywana oraz analizowana w kategorii interdyscyplinarnej, z różnych perspektyw badawczych. Prekursorem teorii innowacji jest austriacki ekonomista Schumpeter (1960), który w pracy *Teoria rozwoju gospodarczego* eksponował wyjątkową rolę innowacji w rozwoju gospodarczym i cywilizacyjnym. Zaprezentował on rozwiniętą definicję innowacji, która obejmuje nowe kombinacje różnych przyrodniczych elementów i produkcyjnej siły człowieka, w obszarze:

- wytworzenia nowego produktu lub wprowadzenia na rynek produktu o nowych właściwościach, z którym konsumenci się jeszcze nie zetknęli,
- wprowadzenia nowej metody produkcji (lub udoskonalenia już istniejącej),
- otwarcia nowego rynku,
- zdobycia nowych źródeł surowców lub półfabrykatów,
- wprowadzenia nowych form organizacji w przemyśle (Schumpeter, 1960).

Na podstawie zaproponowanej przez Schumpetera (1960) definicji można stwierdzić, że innowacja oznacza wprowadzenie do praktyki nowego rozwiązania, którego przedmiotem są przede wszystkim innowacje techniczne i ich oddziaływanie na gospodarkę. Dalsze zastosowanie wynalazku w praktyce to odrębny rodzaj zmian, określane mianem imitacji. Definicja ta stała się punktem wyjścia rozważań o znaczeniu innowacji w gospodarce.

Z kolei Drucker (1992) zaproponował podejście biznesowe do pojęcia innowacji i definiuje ją jako korzystną ekonomicznie eksploatację nowych pomysłów. Na podstawie definicji Druckera można stwierdzić, że innowacje stanowią swoiste narzędzie przedsiębiorczości, oznaczają bowiem postępowanie, które podsuwa zasobom nowe możliwości generowania bogactwa. Zdaniem Druckera innowacje są przypisywane bardziej do sfery gospodarczej i społecznej niż

technicznej, a na szczeblu przedsiębiorstwa rozstrzygającą wartość mają innowacje techniczne (Drucker, 1992). Podobne podejście w interpretacji terminu innowacji prezentuje Porter (2001), który dostrzegł źródło przewagi konkurencyjnej przedsiębiorstw w podejmowanych działaniach innowacyjnych. Według Portera innowacja może się przejawiać jako nowy wzór wyrobu, nowy proces produkcyjny, nowe podejście marketingowe lub nowe sposoby szkoleń. Z kolei w modelu innowacji Kotlera i in. (1999) źródłem innowacji może być wszystko to, co tworzy środowisko stymulujące procesy zmian. Jak wyjaśniają wspomniani autorzy: „pomysły na nowy produkt mogą pochodzić z wielu źródeł: od klientów, naukowców, konkurentów, pracowników, uczestników kanałów dystrybucji i zarządu” (Kotler i in., 1999). Dlatego ważne jest, aby przedsiębiorstwo zwracało uwagę na zasoby wiedzy i informacje pochodzące z różnych źródeł.

Podręcznik metodologiczny *Oslo Manual* (2005), opracowany przez ekspertów Organizacji Współpracy Gospodarczej i Rozwoju (OECD) oraz Europejski Urząd Statystyczny (Eurostat), określa innowację jako: „wdrożenie nowego lub znacząco udoskonalonego produktu (wyrobu lub usługi) lub procesu, nowej metody marketingowej lub nowej metody organizacyjnej w praktyce gospodarczej, organizacji miejsca pracy lub stosunkach z otoczeniem” (*Oslo Manual*, 2005). W toku rozwoju teorii innowacyjności pojawiło się wiele typologii, jednak najczęściej przytaczana jest klasyfikacja innowacji zaproponowana w podręczniku *Oslo Manual*, która obejmuje cztery typy innowacji:

- produktową,
- procesową,
- marketingową,
- organizacyjną (*Oslo Manual*, 2005).

Innowacje produktowe wiążą się z zastosowaniem nowych technologii, z nowym zastosowaniem istniejących technologii lub też z wykorzystaniem nowej wiedzy. Do tej kategorii zaliczają się znaczące udoskonalenia pod względem specyfikacji technicznych, komponentów i materiałów, wbudowanego oprogramowania, łatwości obsługi lub innych cech funkcjonalnych. Innowacje procesowe to zmiany w stosowanych metodach wytwarzania lub dostawy. Zalicza się do nich znaczące zmiany w zakresie technologii, urządzeń lub oprogramowania. Innowacje procesowe różnią się od produktowych tym, że innowacje produktowe są bardziej wrażliwe na czynniki rynkowe związane z makrootoczeniem (między innymi ekonomiczne, technologiczne, prawne, międzynarodowe, społeczne, kulturowe, demograficzne, polityczne) oraz z mikrootoczeniem (czyli związane z konkurencją, regulatorami rynku, instytucjami naukowymi, grupami społecznymi). Na innowacje produktowe na rynku produktów żywnościowych większy wpływ mają zewnętrzne czynniki rynkowe. Szczególnie innowacje produktowe wrażliwe są na postawy konsumentów, którzy finalnie decydują o sukcesie lub

porażce wprowadzenia innowacji. Z kolei innowacje procesowe mogą być mniej zależne od czynników rynkowych związanych bezpośrednio z konsumentami, ponieważ dotyczą na przykład zmian technologii czy zmian metod wytwarzania. Innowacje procesowe nie mogą być oderwane od czynników rynkowych, ale nie wszystkie czynniki w istotny sposób mogą na nie oddziaływać. Trzeci typ, czyli innowacje marketingowe, obejmują wdrożenie nowej metody marketingowej wiążącej się ze znaczącymi zmianami w projekcie/konstrukcji produktu lub w opakowaniu, dystrybucji, promocji czy strategii cenowej. Z kolei innowacje organizacyjne polegają na wdrożeniu nowej metody organizacyjnej w przyjętych przez firmę zasadach działania, w organizacji miejsca pracy lub w stosunkach z otoczeniem. Konieczność wprowadzenia kategorii innowacji marketingowych i organizacyjnych w ramach przejawów aktywności innowacyjnych przedsiębiorstw dostrzeżono dopiero w XXI wieku w trzeciej edycji *Oslo Manual* (2005).

Wyodrębnienie czterech rodzajów innowacji ma istotne znaczenie dla sporządzania statystyk, śledzenia dynamiki i zmian strukturalnych innowacji w różnych obszarach działalności produkcyjnej i usługowej. Analiza danych obrazujących działalność innowacyjną przedsiębiorstw, które wdrażają innowacje produktowe, procesowe, organizacyjne lub marketingowe, pozwala ocenić nie tylko poziom innowacyjności przedsiębiorstw w przekroju wielkości i działów prowadzonej działalności, lecz także efektywność innowacji produktowych.

Zgodnie z opublikowanym przez Komisję Europejską w 2020 roku rankingiem *European Innovation Scoreboard 2020* Polska pod względem innowacyjności znajduje się w trzeciej grupie państw, wśród „umiarkowanych innowatorów”. Polska wykazała silny wzrost wydajności innowacyjnej w latach 2018 i 2019, co doprowadziło do ogólnego wzrostu wyników o 13,0 pp. w porównaniu z 2012 rokiem. Analizy potwierdzają posiadanie przez Polskę odpowiednich zasobów do rozwoju innowacyjności w postaci wykształconego społeczeństwa, relatywnie wysokiej aktywności w patentowaniu i powstawaniu innowacyjnych spółek. Niestety posiadane zasoby nie przekładają się na odpowiednią współpracę nauki z biznesem (poziom zatrudnienia w sektorze badawczo-rozwojowym) oraz wartość dodaną przemysłu. W celu poprawy innowacyjności polskiej gospodarki niezbędne wydaje się stymulowanie poziomu wydatków na działalność badawczo-rozwojową poprzez systemy zachęt (ulgi podatkowych) dla przedsiębiorstw oraz zwiększenie zatrudnienia w centrach badawczo-rozwojowych. Aby pomnożyć szanse na komercjalizację wyników badań, transfer innowacji do gospodarki i przychody zagraniczne z licencji i patentów, należy również zadbać o jakość patentów. Według powyższego rankingu wydajność innowacyjna Unii Europejskiej systematycznie rośnie, wyprzedzając po raz kolejny Stany Zjednoczone. Jednakże innowacyjność państw UE nadal odbiega od światowych liderów innowacji, takich jak Korea Południowa, Australia i Japonia (*European Innovation Scoreboard, 2020*).

W Polsce w latach 2013–2015 aktywność innowacyjną wykazało 20,2% przedsiębiorstw przemysłowych oraz 11,9% przedsiębiorstw usługowych. W latach 2016–2018 aktywność innowacyjną odnotowano na poziomie 26,1% i 21% odpowiednio dla przedsiębiorstw przemysłowych i usługowych (Główny Urząd Statystyczny [GUS], 2016a, 2019). Wyniki badania działalności innowacyjnej w latach 2013–2015 oraz 2016–2018 wskazują, że zarówno w przedsiębiorstwach przemysłowych, jak i usługowych częściej są wprowadzane innowacje procesowe (nowe lub ulepszone procesy) niż produktowe (nowe lub ulepszone produkty) (tabela 1).

Tabela 1. Odsetek przedsiębiorstw, które w latach 2013–2015 i 2016–2018 wprowadziły innowacje produktowe i procesowe

Wyszczególnienie	Przedsiębiorstwa przemysłowe		Przedsiębiorstwa usługowe	
	2013–2015	2016–2018	2013–2015	2016–2018
Przedsiębiorstwa, które wprowadziły nowe lub ulepszone produkty	11,8	16,8	4,8	9,6
Przedsiębiorstwa, które wprowadziły nowe lub ulepszone procesy	13,0	19,9	7,4	17,5

Źródło: Opracowanie na podstawie (GUS, 2016a, 2019).

W latach 2016–2018 największy odsetek przedsiębiorstw przemysłowych, które wprowadziły innowacje produktowe, odnotowano w dziale produkcji wyrobów farmaceutycznych, a najmniejszy w dziale rekultywacji (tabela 2).

Tabela 2. Odsetek przedsiębiorstw przemysłowych aktywnie innowacyjnych w latach 2013–2015 i 2016–2018 według działów PKD

Wyszczególnienie	Przedsiębiorstwa przemysłowe	
	2013–2015	2016–2018
Produkcja wyrobów farmaceutycznych	44,9	58,4
Produkcja komputerów, wyrobów elektronicznych i optycznych	39,1	53,6
Wydobywanie węgla kamiennego i węgla brunatnego (lignitu)	44,8	50,0
Produkcja urządzeń elektrycznych	37,4	49,3
Produkcja koksu i produktów rafinacji ropy naftowej	46,7	49,2
Produkcja chemikaliów i wyrobów chemicznych	44,0	47,2
Produkcja wyrobów z gumy i tworzyw sztucznych	23,9	33,0
Produkcja napojów	37,1	32,9
Produkcja artykułów spożywczych	11,4	21,9

Wyszczególnienie	Przedsiębiorstwa przemysłowe	
	2013–2015	2016–2018
Gospodarka odpadami; odzysk surowców	11,9	16,7
Produkcja skór i wyrobów skórzanych	7,0	16,3
Produkcja odzieży	6,1	13,3
Rekultywacja	14,3	9,3

Źródło: Opracowanie na podstawie (GUS, 2016a, 2019).

Należy również zwrócić uwagę, że w latach 2016–2018 niemal dwukrotnie więcej innowacji wprowadzono w segmencie produkcji artykułów spożywczych wśród przedsiębiorstw przemysłowych (tabela 2). Przyczyną może być znacznie zwiększona konkurencja wśród przedsiębiorstw przemysłu spożywczego, zarówno na rynku krajowym, jak i międzynarodowym. Wymaga to poprawy produktywności, a w konsekwencji podejmowania działań innowacyjnych pozwalających na uzyskanie przewagi konkurencyjnej w dłuższej perspektywie (Białek-Jaworska i in., b.d.).

1.2. Uwarunkowania procesu zarządzania innowacjami na rynku żywności

Zmiany uwarunkowań na rynku, determinowane makrotrendami demograficznymi, ekonomicznymi, społecznymi, globalizacją, rozwojem technologii, konkurencyjnością i turbulentnością rynków, jak również mikrotrendami, między innymi regionalnością oraz lokalnością produkcji i konsumpcji, w coraz większym stopniu wpływają na innowacyjną działalność przedsiębiorstw. Warto jednak zwrócić uwagę na holistyczny charakter innowacji i sprzężenia występujące między poszczególnymi ich rodzajami. Innowacyjność jest procesem, w którym splatają się i uzupełniają zmiany wprowadzone w wymiarze rzeczowym innowacji: nowy produkt, nowa usługa, nowa metoda produkcji, jak też w wymiarze procesowym – w postaci etapów działań od powstania pomysłu, poprzez prace badawczo-rozwojowe, wdrażanie do produkcji, wprowadzenie na rynek, do etapu dyfuzji.

Proces zarządzania innowacjami produktowymi w przedsiębiorstwie to proces sekwencyjny i w uproszczonej wersji składa się z czterech podstawowych etapów:

- poszukiwanie innowacji,
- wybór innowacji,

- wdrażanie innowacji,
- dyskutowanie innowacji (Tidd i Bessant, 2011).

Poszukiwanie innowacji jest ukierunkowane na odbieranie sygnałów z otoczenia (zewnętrznego lub wewnętrznego), wykorzystywanie pojawiających się możliwości, jakie stwarzają nowe technologie, analizę zmian legislacyjnych czy też analizę działań konkurencyjnych. Skuteczne zarządzanie procesem poszukiwania informacji wymaga rozbudowanych mechanizmów do ich identyfikacji i przetwarzania (Tidd i Bessant, 2011).

Wybierając innowację za pomocą obranej strategii, należy dokonać selekcji, wybrać i przekształcić pomysł w innowacyjną koncepcję, która będzie potrzebna na kolejnych etapach. Celem tej fazy jest analiza pomysłów innowacyjnych dotyczących okazji rynkowych czy technologicznych, z uwzględnieniem obecnego stanu wiedzy i kompetencji merytorycznych firmy, wraz z oceną spójności zamierzonej innowacji ze strategią funkcjonowania przedsiębiorstwa w kierunku przekształcenia pomysłu w koncepcję innowacji informacji (Tidd i Bessant, 2011).

W przypadku projektowania innowacyjnych produktów żywnościowych o cechach prozdrowotnych lub modyfikacji istniejących najważniejsze jest definiowanie koncepcji produktu i jego ocena. Podstawą powinny być wyniki badań naukowych doświadczalnie dokumentujących efekt prozdrowotny czy też wyróżniającą funkcję żywieniową, spełnienie wymagań prawa żywnościowego, a także rozpoznanie istniejących potrzeb konsumentów lub sprawdzenie możliwości wywołania nowych potrzeb poprzez proponowanie innowacyjnych rozwiązań produktowych (Barrena i Sanchez, 2013; Pachołek, 2019; Vicentini i in., 2016).

Wdrażanie innowacji polega na wprowadzeniu pomysłu w życie poprzez wytworzenie nowego produktu bądź usługi. Zazwyczaj etap ten rozpoczyna analiza innowacji z perspektywy pozyskiwania i zarządzania wiedzą już dostępną w przedsiębiorstwie (na przykład wiedza technologiczna z prac badawczo-rozwojowych prowadzona w przedsiębiorstwie), jak również ocena możliwości potencjalnego transferu technologii z zewnątrz. Należy przeprowadzić szczegółową analizę czynników ekonomicznych, demograficznych, techniczno-technologicznych, prawnych, aby proces opracowania nowego produktu żywnościowego zakończył się sukcesem lub już na tym etapie decyzją o rezygnacji z realizowanego procesu. Wśród kryteriów analizy koncepcji innowacji o cechach prozdrowotnych w żywności należy wyróżnić bezpieczeństwo dla zdrowia człowieka, udokumentowany pozytywny wpływ na zdrowie człowieka, technologiczną zasadność i możliwość ich stosowania. Niekiedy na tym etapie następuje cofnięcie się do etapu koncepcyjnego z porzuceniem dotychczasowej koncepcji lub jej modyfikacją. Kolejną fazą tego etapu jest realizacja

projektu innowacyjnego, w której wykorzystuje się metodologię zarządzania projektem. Faza ta rozpoczyna się od planowania ogólnego, następnie planowania szczegółowego, organizacji projektu, wyznaczenia określonych celów i etapów, realizacji i monitorowania poszczególnych zaplanowanych działań. Końcowym rezultatem jest innowacja gotowa do debiutu rynkowego. Opracowanie i wdrożenie strategii wprowadzenia produktu na rynek jest uwarunkowane między innymi rodzajem innowacji, pozycją rynkową przedsiębiorstwa, zasobami przedsiębiorstwa i poziomem konkurencji rynkowej (Sojkin, 2003; Tidd i Bessant, 2011).

Ostatnim etapem zarządzania innowacjami jest proces dyfuzji (dyskontowania innowacji). Jest to długotrwały proces rozprzestrzeniania się informacji o danej innowacji na rynku w systemach społecznych. Dyskontowanie wiąże się z celem innowacyjności, jakim jest dążenie do sukcesu rynkowego, między innymi dzięki akceptacji przez liczną grupę konsumentów, pozwalającej na zadowalające efekty finansowe dla przedsiębiorstwa, czy też obniżenie kosztów i zwiększenie udziałów w rynku. Dyfuzja innowacji jest procesem wieloetapowym i przebiega na wielu płaszczyznach (Rogers, 1983; Tidd i Bessant, 2011).

Interesujący, kompleksowy model procesu kształtowania systemu zarządzania innowacjami w przedsiębiorstwie zaprezentowali Cyfert i Mielcarek (2010), według których istnieją cztery główne podprocesy (rysunek 1):



Rysunek 1. Model procesu zarządzania innowacjami

Źródło: (Cyfert i Mielcarek, 2010).

- analiza determinant systemu zarządzania innowacjami,
- projektowanie/doskonalenie systemu zarządzania innowacjami,
- wdrażanie systemu zarządzania innowacjami,
- kontrola funkcjonowania systemu zarządzania innowacjami.

Zaproponowany układ szczegółowych działań (w ramach zdefiniowanych podprocesów) charakteryzuje się systemowym, kompleksowym rozwiązaniem, cyklicznością i logiką powiązań, a także możliwością uzyskania i utrzymania efektu synergii w zarządzaniu innowacjami.

Zaproponowany model i jego prawidłowe wdrożenie może pozwolić na uzyskanie następujących korzyści dla przedsiębiorstwa:

- kompleksowe, holistyczne zarządzanie innowacjami w przedsiębiorstwie,
- zintegrowanie systemu zarządzania innowacjami ze strategią przedsiębiorstwa i systemem zarządzania projektami i procesami,
- poprawa komunikacji działań innowacyjnych w przedsiębiorstwie, w tym zwiększenie aktywności innowacyjnej przedsiębiorców (Cyfert i Mielcarek, 2010).

Proces zarządzania innowacjami produktowymi wpływającymi na projektowanie i rozwój produktów na rynku ze strony przedsiębiorstwa jest uzależniony od:

- stanu posiadanej wiedzy,
- stopnia innowacyjności (między innymi aktywności innowacyjnej pracowników),
- kultury organizacyjnej,
- zasobów przedsiębiorstwa,
- ograniczeń czasowych,
- dostępności surowców,
- przyjętego poziomu ryzyka (Cyfert i Mielcarek, 2010; Kokot-Stępień, 2017; Rutkowski, 2016; Sojkin, 2012; Tidd i Bessant, 2011).

Wyniki badań na polskich rynkach żywnościowych: mleczarskim, tłuszczowym, cukierniczo-piekarniczym, mięsno-wędliniarskim wykazały, że podmioty w kategorii liderzy rynkowi (duże przedsiębiorstwa) w swoim portfelu innowacji produktowych posiadają nowe produkty na rynku na poziomie 10–20%. Pozostała struktura innowacji to głównie modyfikacje produktowe (50–60%) lub nowe produkty dla przedsiębiorstwa (40%). W przypadku przedsiębiorstw małych i średnich w portfelu innowacji występują głównie modyfikacje (na poziomie około 80%), a pozostałe produkty to nowe produkty dla przedsiębiorstw. Wśród tych przedsiębiorstw nie odnotowano kategorii: nowe produkty na rynku. W badanych przedsiębiorstwach proces projektowania i rozwoju produktów wyglądał

podobnie. Poszczególne etapy: poszukiwanie pomysłów, ich selekcja, prace koncepcyjne, opracowanie i testowanie prototypu, analiza ekonomiczna, opracowanie procesu komercjalizacji, ocena skuteczności nowego produktu były zbliżone. Niemniej w zależności od wielkości przedsiębiorstwa, pozycji rynkowej przedsiębiorstwa, rynku żywnościowego oraz skali działania zaobserwowano różnice w zakresie i szczegółowości poszczególnych działań (Sojkin, 2012).

Informacje płynące z rynku żywności i dostępne dane literaturowe (Pacholek, 2019; Rogut i Piasecki, 2009; Sojkin, 2012) wskazują, że głównym kierunkiem innowacyjności produktowej na rynku żywnościowym jest projektowanie innowacyjnych produktów o dodatkowych, zadeklarowanych cechach prozdrowotnych. Wśród produktów o największym potencjale wymieniono między innymi żywność ukierunkowaną na zmniejszenie ryzyka chorób (zwłaszcza tzw. chorób cywilizacyjnych), wykorzystanie do produkcji żywności surowców roślinnych bogatych w składniki bioaktywne korzystne dla zdrowia, wykorzystanie niekonwencjonalnych surowców i produktów ubocznych, rozwijanie produktów o cechach prozdrowotnych otrzymanych na drodze wzbogacenia w bioaktywne składniki (na przykład błonnik pokarmowy, probiotyki, prebiotyki, synbiotyki, wielonienasycone kwasy tłuszczowe, substancje fitochemiczne: fitostrole, związki fenolowe, fitoestrogeny), czy też wprowadzenie nowych metod wytwarzania, pozwalających na znaczące ograniczenie strat labilnych związków biologicznie odżywczych lub o fizjologicznym udokumentowanym oddziaływaniu na organizm człowieka. Kierunek ten jest też swoistą odpowiedzią na aktualne trendy konsumenckie. Wyniki przeprowadzonych badań konsumenckich wskazują na najistotniejsze elementy akceptacji konsumenckiej, wpływające na modelowanie procesu komercjalizacji innowacji produktowych. Są to: precyzyjna ocena zachowań uczestników potencjalnego rynku docelowego, zgodność postrzegania innowacji przez konsumentów z pożądaną charakterystyką innowacyjnego produktu oraz widoczność/dostrzegalność produktu na półce sklepowej (Sojkin, 2012).

Rozwojowi innowacji produktów o cechach prozdrowotnych sprzyja rosnąca chęć poprawy jakości życia konsumenta, jak również pojawienie się składników żywności, które są ponownie dodane do żywności (na przykład zboża rzekome, ekstrakty roślinne, produkty uboczne przemysłu spożywczego) oraz rozwój możliwości analitycznych pozwalających na precyzyjne określenie pozytywnego oddziaływania na organizm człowieka. Rynek żywności o dodatkowych cechach prozdrowotnych (określany jako rynek żywności funkcjonalnej) jest jednym z najszybciej rozwijających się rynków żywnościowych na świecie. W 2017 roku wartość globalnego rynku żywności funkcjonalnej była szacowana na 129 mld dolarów. Według prognoz sprzedaż dla tej kategorii produktów spożywczych na świecie może w 2024 roku osiągnąć wartość 253 mld dolarów, co oznaczałoby niemal dwukrotny wzrost w porównaniu z wartością z 2017 roku (Puls Biznesu, 2018).

1.3. Osłonki jako innowacyjny produkt na rynku żywności

Zgodnie z Rozporządzeniem Komisji (WE) nr 450/2009 z dnia 29 maja 2009 r. w sprawie aktywnych i inteligentnych materiałów i wyrobów przeznaczonych do kontaktu z żywnością osłonki (materiały pokrywające lub powlekające żywność) należą do nowoczesnych, aktywnych i inteligentnych materiałów i wyrobów przeznaczonych do kontaktu z żywnością. Mogą składać się z jednej lub więcej warstw lub elementów materiałów różnego typu, takich jak tworzywa sztuczne, papier, karton lub materiały powlekające i lakiery. Osłonki mogą występować jako:

- integralna część produktu żywnościowego,
- opakowanie produktu żywnościowego (na przykład niejadalne powłoki wędlin, serów).

Ponadto w rozumieniu Ustawy z dnia 13 czerwca 2013 r. o gospodarce opakowaniami i odpadami opakowaniowymi (Dz.U. 2013, poz. 888) oraz Rozporządzenia Ministra Środowiska z dnia 22 października 2013 r. w sprawie przykładowego wykazu wyrobów, które uznaje się albo nie uznaje się za opakowanie (Dz.U. 2013, poz. 1274), osłonki nie są opakowaniem, ponieważ stanowią integralną część produktu i nie są stosowane samodzielnie. Stanowią one jednak niezwykle ważny element zapewnienia jakości i trwałości produktów żywnościowych. Osłonki zabezpieczają produkt przed wnikaniem do jego wnętrza niepożądanych obcych zapachów oraz ograniczają rozwój patogennej mikroflory. Pozwalają także wyeksponować atrakcyjny wygląd produktu i zachęcić konsumentów do zakupu. Jeśli osłonki stanowią integralną część produktu żywnościowego, mogą być przeznaczone do spożycia lub ich spożycia można się spodziewać, wówczas są objęte kategorią „żywność” i muszą spełniać wszelkie rygorystyczne wymagania dotyczące żywności. Zgodnie z definicją podaną w Rozporządzeniu (WE) nr 178/2002 Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 28 stycznia 2002 r. ustanawiającym ogólne zasady i wymagania prawa żywnościowego, powołującym Europejski Urząd ds. Bezpieczeństwa Żywności oraz ustanawiającym procedury w zakresie bezpieczeństwa żywność to:

jakiegokolwiek substancje lub produkty, przetworzone, częściowo przetworzone lub nieprzetworzone, przeznaczone do spożycia przez ludzi lub których spożycia przez ludzi można się spodziewać (obejmuje napoje, gumę do żucia i wszelkie substancje, łącznie z wodą), świadomie dodane do żywności podczas jej wytwarzania, przygotowania lub obróbki.

Zgodnie z uregulowaniami prawa żywnościowego każda żywność, w tym osłonka jadalna, wprowadzana na rynek musi być bezpieczna. Podstawowymi uregulowaniami prawnymi dotyczącymi bezpieczeństwa żywności w Unii Europejskiej są rozporządzenia Parlamentu Europejskiego i Rady:

- Rozporządzenie (WE) nr 178/2002 Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 28 stycznia 2002 r. ustanawiające ogólne zasady i wymagania prawa żywnościowego, powołujące Europejski Urząd ds. Bezpieczeństwa Żywności oraz ustanawiające procedury w zakresie bezpieczeństwa żywności,
- Rozporządzenie (WE) nr 852/2004 Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 29 kwietnia 2004 r. w sprawie higieny środków spożywczych,
- Rozporządzenie (WE) nr 853/2004 Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 29 kwietnia 2004 r. ustanawiające szczególne przepisy dotyczące higieny w odniesieniu do żywności pochodzenia zwierzęcego,
- Rozporządzenie (WE) nr 854/2004 Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 29 kwietnia 2004 r. ustanawiające szczególne przepisy dotyczące organizacji urzędowych kontroli w odniesieniu do produktów pochodzenia zwierzęcego przeznaczonych do spożycia przez ludzi,
- Rozporządzenie (WE) nr 1924/2006 Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 20 grudnia 2006 r. w sprawie oświadczeń żywieniowych i zdrowotnych dotyczących żywności,
- Rozporządzenie (WE) nr 258/97 Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 27 stycznia 1997 r. dotyczące nowej żywności i nowych składników żywności,
- Rozporządzenie Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) nr 1333/2008 z dnia 16 grudnia 2008 r. w sprawie dodatków do żywności,
- Rozporządzenie Parlamentu Europejskiego i Rady (UE) nr 1169/2011 z dnia 25 października 2011 r. w sprawie przekazywania konsumentom informacji na temat żywności.

W Polsce podstawowym aktem prawnym jest Ustawa z dnia 25 sierpnia 2006 r. o bezpieczeństwie żywności i żywienia (Dz.U. 2006, Nr 171 poz. 1225), której zapisy definiują bezpieczeństwo żywności jako:

ogół warunków, które muszą być spełnione, w szczególności dotyczących stosowanych substancji dodatkowych i aromatów, poziomu substancji zanieczyszczających, pozostałości pestycydów, warunków napromieniowania żywności, cech organoleptycznych i działań, które muszą być podejmowane na wszystkich etapach produkcji i obrotu żywnością w celu zapewnienia zdrowia i życia człowieka.

Osłonki jadalne można podzielić w zależności od zastosowanego materiału powłokotwórczego na:

- biopolimery polisacharydowe,
- biopolimery białkowe,
- biopolimery tłuszczowe (Cutter, 2006; Han, 2014; Pająk, 2011).

Niekiedy ze względu na pochodzenie wyróżnia się również osłonki pochodzenia zwierzęcego, roślinnego i mikrobiologicznego. Najczęściej stosowanymi polimerami pochodzenia zwierzęcego są chitozan i wosk pszczeli. Z grupy polimerów pochodzenia roślinnego wykorzystywane są między innymi skrobia, izolaty białka sojowego oraz wosk słonecznikowy. Polimerami pochodzenia mikrobiologicznego mogą być pullulan i kurdlan (Kozłowicz i in., 2011; Szymańska i in., 2019).

W przypadku osłonek niejadalnych szczegółowe uregulowania prawne są określone w Rozporządzeniu (WE) nr 1935/2004 Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 27 października 2004 r. w sprawie materiałów i wyrobów przeznaczonych do kontaktu z żywnością. Zgodnie z przepisami wszystkie materiały lub wyroby przeznaczone do kontaktu z żywnością powinny być produkowane według zasad dobrej praktyki produkcyjnej (GMP), nie powinny przenikać do żywności w ilościach stanowiących zagrożenie dla zdrowia człowieka, nie mogą powodować nieakceptowalnych zmian w składzie żywności i pogorszenia jej cech organoleptycznych. Wśród osłonek niejadalnych, ze względu na materiał powłokotwórczy, wyróżnia się osłonki:

- naturalne, wykonane z materiałów naturalnych (na przykład kolagenowe),
- sztuczne, wykonane z tworzyw sztucznych (Pawlicka, 2018).

W ostatnich latach zaobserwowano wyraźny kierunek badawczy ściśle związany z wytwarzaniem materiałów osłonkowych przyjaznych środowisku. Poszukiwaniu i analizie naturalnych biopolimerów poświęcono wiele prac badawczych. Substancje te cieszą się dużym zainteresowaniem w różnych gałęziach przemysłu spożywczego ze względu na cenne właściwości użytkowe. Te cechy czynią je atrakcyjnym materiałem o wielu zastosowaniach, w tym do produkcji jadalnych osłonek. Osłonki jadalne stanowią ciekawą alternatywę dla wszechobecnych osłonek niejadalnych.

Materiałami stosowanymi do produkcji jadalnych osłonek są związki organiczne otrzymane bezpośrednio z biomasy roślinnej lub zwierzęcej, plastyfikatory i dodatki polepszające walory użytkowe oraz technologiczno-funkcjonalne (tabela 3). Podstawowymi składnikami osłonek jadalnych są białka, polisacharydy oraz związki tłuszczowe. Składniki te odgrywają coraz większą rolę w inżynierii opakowań, zastępując nieulegające biodegradacji polimery petrochemiczne. Biopolimerom takich osłonek stawia się wysokie wymagania:

- funkcjonalne (pożądana bariera dla wody, gazów, oleju),
- mechaniczne (twardość, odporność na naprężenia, elastyczność),
- wizualne (przezierność, bezbarwność).

W wyborze biopolimerów należy również uwzględnić inne aspekty, takie jak koszt, dostępność, kwestie zdrowotne, przetwarzanie, podatność na rozkład mikrobiologiczny oraz bioaktywność (Souza i in., 2017).

Tabela 3. Materiały stosowane do produkcji osłonek jadalnych

Element składnika	Material
Materiały powłokotwórcze	polisacharydy: skrobia, skrobia modyfikowana, celuloza modyfikowana (CMC, MC, HPC, HPMC), alginiany, karagen, pektyna, pullulan, chitozan, guma, guma ksantanowa białka: kolagen, żelatyna, kazeina, białka serwatkowe, zeina, gluten, pszeniczny, białka sojowe, białka jaja, włókna mięśniowe ryb, białka sorgo, białka grochu, białka otrąb ryżowych, białka bawełny, białka orzechów ziemnych, keratyna związki tłuszczowe: woski (pszczeli, carnauba, candelilla, parafina), żywice (szelak, terpeny), acetoglicerole
Plastyfikatory	glicerol, glikol propylenowy, sorbitol, sacharoza, glikol polietylenowy, syrop kukurydziany
Dodatki funkcjonalne	przeciwutleniające, związki przeciwdrobnoustrojowe, związki odżywcze, związki nutraceutyczne, związki farmaceutyczne, związki zapachowe, barwniki
Inne dodatki	emulgatory (lecycyna), emulsje tłuszczowe (woski jadalne, kwasy tłuszczowe)

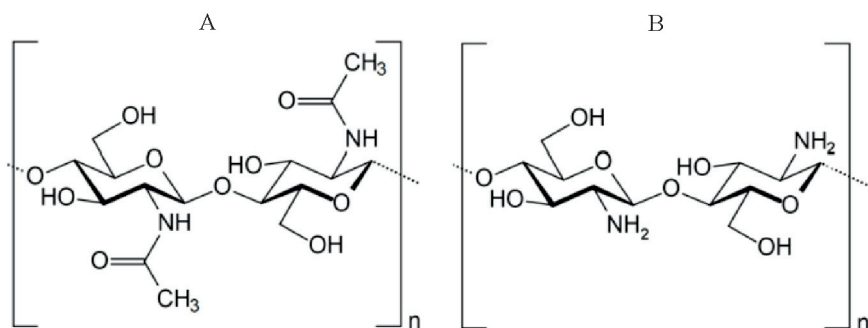
Źródło: Na podstawie (Han, 2014).

Polisacharydy

W ostatnich latach wzrosło zainteresowanie wykorzystaniem polisacharydów, zwłaszcza bioaktywnych o właściwościach przeciwutleniających, ze względu na ich określone działania terapeutyczne (J. Liu i in., 2015). Ponadto polimery te ulegają enzymatycznemu i (lub) hydrolitycznemu rozkładowi w środowisku biologicznym do nietoksycznych produktów (Shelke i in., 2014). Polisacharydy (hydrokoloidy) to polimery o wysokiej masie cząsteczkowej. Wielocząsteczkowe polisacharydy uzyskiwane są poprzez ekstrakcję nasion, wodorostów, a także metodami biotechnologicznymi (są produkowane przez drobnoustroje). Do ich funkcji biologicznych należy tworzenie struktur (polisacharydy szkieletowe) oraz odkładanie substancji zapasowych (polisacharydy zapasowe). Polisacharydy odpowiadają za strukturę produktów żywnościowych poprzez nadawanie im

określonych cech fizykochemicznych, które decydują o ich jakości (Lovegrove i in., 2017). Do najbardziej rozpowszechnionych polisacharydów w przyrodzie zalicza się: chitynę/chitozan, skrobię, celulozę, alginian, kwas hialuronowy, pululan, gumę gaur oraz gumę ksantanową (Shelke i in., 2014).

Jednym z najbardziej preferowanych biopolimerów polisacharydowych do produkcji jadalnych osłonek przeznaczonych do kontaktu z żywnością jest chitozan (Mujtaba i in., 2019). Chitozan to nietoksyczny polikationowy polimer zbudowany z reszt *D*-glukozy aminy połączonych wiązaniami β -1,4-glikozydowymi (rysunek 2A). Otrzymuje się go poprzez chemiczną *N*-deacetylację chityny (rysunek 2B), organicznej substancji szkieletowej bezkręgowców i składnik ściany komórkowej grzybów i zielonych alg (Van den Broek i in., 2015). Stopień deacetylacji, który świadczy o liczbie wolnych grup aminowych, waha się od 60% do 100% (EFSA, 2011; Vinsova i Vavrikova, 2008). Masa cząsteczkowa chitozanu w preparatach handlowych wynosi natomiast od 3800 do 20 000 Da (EFSA, 2011).



Rysunek 2. Struktura chemiczna (A) chityny i (B) chitozanu

Źródło: (Younes i Rinaudo, 2015).

Zarówno stopień deacetylacji, jak i średnia masa cząsteczkowa wpływają na właściwości funkcjonalne chitozanu (aktywność przeciwutleniającą oraz przeciwdrobnoustrojową) i jego późniejsze zastosowanie w przemyśle. Czysty, natywny chitozan nie rozpuszcza się w wodzie, roztworach alkalicznych ani w rozpuszczalnikach organicznych, natomiast jest rozpuszczalny w rozcieńczonych roztworach kwasów. Rozpuszczalne w wodzie są sole chitozanu otrzymywane w wyniku neutralizacji kwasami organicznymi, takimi jak kwas mlekowy, mrówkowy czy octowy na poziomie 1–10%. W związku z tym najczęściej stosowaną formę chitozanu w badaniach aplikacyjnych stanowią sole chitozanu, takie jak mleczan, mrówczan i octan (Cervera i in., 2011; Nunthanid i in., 2008).

W świetle dostępnej literatury celowe wydaje się prowadzenie badań nad wykorzystaniem chitozanu do różnych zastosowań w żywności, kosmetyce, bio-

medycynie, rolnictwie i gospodarce ściekowej (Nurunnabi i in., 2017). Poprawa jakości i trwałości różnych produktów przy użyciu preparatów chitozanowych była przedmiotem badań wielu autorów, ze względu na jego biokompatybilność, biodegradowalność, nietoksyczność, błonotwórczość i właściwości przeciwdrobnoustrojowe (Aljawish i in., 2016; Grande-Tovar i in., 2018). W przemyśle piekarniczym podjęto próby wykorzystania chitozanu do przedłużenia trwałości mokrego makaronu przez naniesienie na jego powierzchnię roztworów tego biopolimeru w kwasie octowym lub mlekowym. J.W. Lee i in. (2000) wykazali, że mokry makaron z dodatkiem chitozanu może być przechowywany nawet do 80 dni dłużej niż produkt bez jego dodatku, przy zachowaniu pożądanej jakości sensorycznej. Podejmowano również próby zastosowania chitozanu jako bioaktywnego składnika produktów mięsnych. W badaniach Sagoo i in. (2002) wykazano, że jednoprocetowy wodny roztwór chitozanu może stanowić skuteczną alternatywę dla osłonek wędliniarskich do kiełbas wieprzowych poprzez ograniczenie wzrostu rodzimej mikroflory o około dwa rzędy logarytmiczne i wydłużenie okresu przechowywania schłodzonych kiełbas z 7 do 15 dni. Osłonki na bazie chitozanu mogą również posłużyć do przedłużenia trwałości zarówno całych owoców, jak i poddanych częściowemu przetworzeniu, na przykład mandarynek, suszu jabłkowego, mango (C. Chen i in., 2019; Chien i in., 2007; Maniak i in., 2007).

Obecne badania nad chitozaniem koncentrują się na różnorodnych jego zastosowaniach w celu poprawy jakości i trwałości surowców, półproduktów oraz produktów spożywczych. Mimo że biopolimer ten charakteryzuje się nietoksycznością, biokompatybilnością, zdolnością tworzenia powłok oraz aktywnością przeciwdrobnoustrojową, ma pewne ograniczenia wynikające z jego nadmiernej rozpuszczalności w wodzie w lekko kwaśnym środowisku, wysokiej lepkości oraz strącania się w pH zasadowym (Rabea i in., 2003). Zdaniem niektórych badaczy struktura cząsteczkowa chitozanu zawiera wiele grup aminowych, które mogą być modyfikowane, tworząc pochodne o polepszonych właściwościach fizycznych, chemicznych i funkcjach fizjologicznych (Rinaudo, 2006; Y. M. Xu i in., 2003).

Białka

Wyróżnia się białka, które zapewniają osłonce dobrą przyczepność i opóźniają brunatnienie (pochodzenia roślinnego: izolaty białka sojowego, mleczko sojowe, gluten pszenny), oraz takie, które zwiększają trwałość mechaniczną, spoistość powłok i przyczepność do wilgotnych powierzchni (pochodzenia zwierzęcego: białka uzyskane z żelatyny, serwatki, kazeiny). W odniesieniu do jadalnych osłonek na bazie bioaktywnych peptydów i hydrolizatów białkowych wykazano skuteczność w hamowaniu patogennych mikroorganizmów i utleniania lipidów,

poprawiając bezpieczeństwo żywności (Tkaczewska, 2020). W kilku badaniach wskazano również na istotne zmiany we właściwościach mechanicznych i morfologicznych powierzchni osłonek z dodatkiem hydrolizatu białkowego i peptydów. Niemniej kierunek tych zmian zależał od rodzaju wprowadzonych hydrolizatów białek. Hydrolizaty białek i biologicznie czynne peptydy stanowią ciekawą alternatywę dla syntetycznych konserwantów i aktywnych składników osłonek biopolimerowych (Tkaczewska, 2020).

Tłuszcze

Stosowanie lipidów do osłonek jadalnych było praktykowane od wieków. Wykorzystywane związki tłuszczowe to woski (pszczeli, carnauba, candelilla, parafina), żywice (szelak, terpeny) oraz acetoglicerole (Han, 2014). Wosk pszczeli (E901) stanowi barierę dla pary wodnej. Zawartość wosku pszczelego w powłoce na poziomie 20% obniża dwuipółkrotnie przepuszczalność pary wodnej. Jednak zbyt duża jego zawartość powoduje obniżenie wytrzymałości powłoki (Kozłowicz i in., 2011). Woski roślinne składają się przede wszystkim z węglowodorów, estrów, kwasów tłuszczowych i wolnych alkoholi tłuszczowych. Woski roślinne candelilla (E902) i carnauba (E903) stanowią bardzo dobrą barierę dla CO₂ oraz ograniczają dyfuzję tlenu. Ponadto charakteryzują się sztywnością i łamliwością, nie ulegają utlenieniu i hydrolizie (Tendaj i Tendaj, 2000). Woski mają niepowtarzalne właściwości sensoryczne. Nadają produktom atrakcyjny połysk, barwę, a także zachowanie i kształtowanie odpowiedniego smaku i zapachu przez stosowanie tych substancji z dodatkami smakowo-zapachowymi i barwnikami (Rhim i Shellhammer, 2005).

Substancje dodatkowe stosowane w jadalnych osłonkach

Osłonki jadalne przeznaczone do kontaktu z żywnością, wytworzone z jednego biopolimerowego składnika, są często kruche i łamliwe, dlatego poza podstawowymi składnikami do ich tworzenia są stosowane substancje dodatkowe, których wprowadzenie ma na celu polepszenie właściwości strukturalnych, mechanicznych i użytkowych. Wśród dodatków polepszających walory użytkowe i technologiczno-funkcjonalne osłonek jadalnych możemy wyróżnić dodatki funkcjonalne i plastyfikatory.

Dodatki funkcjonalne są substancjami niespożywanymi w sposób bezpośredni i nie są typowymi składnikami żywności. Wśród dodatków funkcjonalnych wpływających na kształtowanie jakości osłonek jadalnych można wyróżnić: przeciwutleniacze, związki przeciwdrobnoustrojowe, związki odżywcze, związki nutraceutyczne, związki farmaceutyczne, związki zapachowe, barwniki, emulgatory, emulsje tłuszczowe (Han, 2014). Substancje te, użyte podczas produkcji, przetwarzania, transportu czy magazynowania, poprawiają cechy

produktów. Stosuje się je w celu ochrony przed zmianami jakościowymi, zabezpieczenia produktu przed drobnoustrojami chorobotwórczymi, przedłużenia okresu trwałości czy nadania atrakcyjności produktom. Aby dana substancja dodatkowa została dopuszczona do żywności, musi posiadać ocenę bezpieczeństwa dla zdrowia dokonywaną przez Europejski Urząd ds. Bezpieczeństwa Żywności.

Plastyfikatory to substancje, które poprawiają elastyczność osłonek jadalnych. Najskuteczniejszy jest plastyfikator o strukturze zbliżonej do struktury polimeru tworzącego osłonkę. Plastyfikator wchodzi pomiędzy molekularne łańcuchy biopolimerów i często z nimi oddziałuje przez tworzenie na przykład wiązań wodorowych, dzięki czemu zwiększa się spójność (kohezja) w sieci osłonki i następuje jej skuteczne zmiękczenie oraz rozciągnięcie (Otoni i in., 2017). Jeżeli zastosuje się zbyt duże ilości plastyfikatorów, pogarszają się bariera wilgotności i właściwości mechaniczne powłok. Dodatki takie mogą mieć wyraźny posmak, więc stosunek wielkości dodatku plastyfikatora do biopolimeru jest istotnym parametrem w uzyskaniu funkcjonalnych właściwości osłonek (Sothornvit i Pitak, 2007). Do ważniejszych plastyfikatorów można zaliczyć: glicerol, glikol propylenowy, sorbitol, sacharozę, glikol polietylenowy oraz syrop kukurydziany (Han, 2014).

1.4. Uwarunkowania procesu projektowania osłonek jadalnych

W literaturze naukowej opublikowano prace badawcze, w których wytworzono i scharakteryzowano biopolimerowe osłonki jadalne między innymi na bazie chitozanu, celulozy, skrobi, alginianu, pullulanu, gumy guar, gumy ksantanowej (Chien i in., 2007; Genskowsky i in., 2015; Jao i in., 2017; Kaya i in., 2016; Shelke i in., 2014; Talon i in., 2017). Naturalne polimery charakteryzują się licznymi zaletami, w tym względną łatwością izolacji oraz możliwościami modyfikacji chemicznej w celu spełnienia różnych potrzeb technologicznych. Pomimo wielu zalet polisacharydy posiadają wady, które ograniczają ich użycie w zastosowaniach przemysłowych. W związku z tym osłonki jadalne na bazie tych polisacharydów są poddawane modyfikacjom, aby uzyskać spójne właściwości fizykochemiczne, w tym stabilność mechaniczną, biodegradowalność i aktywność biologiczną. Prowadzi się badania nad modyfikacją osłonek polimerowych w celu poprawy ich właściwości barierowych oraz zwiększenia wytrzymałości mechanicznej.

Jednym ze sposobów poprawy właściwości użytkowych osłonek jadalnych jest sieciowanie polimerów przez tworzenie między innymi wiązań wodorowych. W tym celu można zastosować polifenole. Dodawanie polifenoli bezpośrednio do żywności jest ograniczone przez ich stosunkowo szybką degradację (Perazzo i in., 2014). Talon i in. (2017) wykorzystali naturalne polifenole ekstrahowane

z tymianku do opracowania przeciwutleniającej osłonki polimerowej na bazie chitozanu do przedłużania trwałości żywności. Wyniki badań wskazują, że połączenie naturalnych związków przeciwutleniających z materiałem powłokotwórczym zwiększa skuteczność przeciwutleniaczy dzięki ochronnemu działaniu matrycy polisacharydowej chitozanu przed utlenianiem polifenoli podczas przechowywania osłonek i przedłuża ich działanie (Talon i in., 2017). W literaturze naukowej są dostępne jeszcze inne prace opisujące możliwość wytworzenia jadalnych osłonek z dodatkiem związków biologicznie aktywnych, wyekstrahowanych na przykład z jagód maqui, zielonej herbaty, czosnku, rozmarynu, szczególnie pod kątem możliwości sterowania szybkością uwalniania związków biologicznie aktywnych ze struktury materiału osłonkowego (Genskowsky i in., 2015; Georgantelis i in., 2007; Jao i in., 2017; Salgado i in., 2015; Shelke i in., 2014). Jednak wpływ naturalnych polifenoli na właściwości osłonek jadalnych nie został całkowicie zbadany. Dodatek polifenoli w postaci ekstraktu do roztworu powłokotwórczego może mieć znaczny wpływ na strukturę i właściwości takich osłonek.

Osłonki jadalne przeznaczone do kontaktu z żywnością są poddawane stałemu procesowi rozwoju i innowacyjnym zmianom będącym efektem przede wszystkim pracy naukowców prowadzących badania w skali laboratoryjnej. Jednak jest niezwykle ważne, aby wyniki badań naukowych były wykorzystywane w praktyce gospodarczej i stanowiły podstawę umożliwiającą wprowadzanie nowych produktów. Na rynku zagranicznym wdrożono już pierwsze produkty wykorzystujące technologię opakowań jadalnych. Edipeel™ został opracowany przez amerykański koncern Apeel Sciences w Kalifornii. Jest on sprzedawany w postaci proszku, który w połączeniu z wodą jest nakładany jako ultracienka, przezroczysta osłonka na owoce i warzywa. Jest wykonany w całości z produktów ubocznych pochodzących z recyklingu, takich jak wyłoki, miazga, skórki, łodygi, nasiona, liście. Powłoka nie ma smaku ani zapachu i jest deklarowana jako bezpieczna, wolna od alergenów i organiczna. Każdy owoc lub warzywo ma własną recepturę Edipeel™. Według koncernu formuła Apeel dotycząca truskawek nie zadziała na przykład dla pomidorów. Do tej pory firma opracowała receptury dla około trzech tuzinów upraw. Apeel Sciences twierdzi, że ich osłonka może pięciokrotnie wydłużyć okres przydatności produktu do spożycia, utrzymując wilgoć wewnątrz i zmniejszając utlenianie i aktywność mikrobiologiczną. Z kolei Naturen™ został stworzony przez firmę Eden Agritech z egzoskieletu skorupiaków, roślin i kwaśnych owoców. Zastosowanie tego produktu ma na celu dwu- lub trzykrotne wydłużenie okresu przydatności do spożycia świeżo pokrojonych produktów, co pozwoli zachować świeżość i ograniczy marnotrawstwo żywności. Powłoka jest niewidoczna, bez smaku i zapachu, zapewnia ochronę mikrobiologiczną przed grzybami, bakteriami i innymi mikroorganizmami w połączeniu z niskimi temperaturami (Szymańska i in., 2019). Mulyono

(2017) przedstawia jadalne saszetki na produkty płynne i półstałe znajdujące się na przykład w makaronach instant. Opakowania te zostały opracowane przez indonezyjską firmę Evoware. Saszetka jadalna została zaprojektowana z wodorostów z powłoką dammar (niedrzewnego produktu leśnego, używanego jako stabilizator żywności) do płynnych i półstałych produktów spożywczych.



2. Produkty uboczne przetwórstwa owoców jako źródło substancji o cechach prozdrowotnych

2.1. Uwarunkowania zagospodarowania produktów ubocznych przetwórstwa owoców

W literaturze naukowej funkcjonuje wiele definicji i interpretacji gospodarki o obiegu zamkniętym (GOZ), które uwzględniają ewolucję jej tworzenia i wdrażania. Do początku XX wieku koncepcja gospodarki o obiegu zamkniętym nie występowała jako samodzielna idea w literaturze naukowej. Charakterystyka tej koncepcji dotyczyła przede wszystkim opisów ekologii przemysłowej, symbiozy gospodarczej i czystszych technologii, zielonej gospodarki, efektywności, zasad 3R (*reduce – reuse – recycle*), zrównoważonej konsumpcji i produkcji oraz zrównoważonego rozwoju (Kirchherr i in., 2017). Dopiero Hislop i Hill (2011) zdefiniowali gospodarkę o obiegu zamkniętym jako strategię rozwoju polegającą na maksymalizowaniu efektywności zasobów i minimalizowaniu produkcji odpadów w kontekście zrównoważonego rozwoju gospodarczego i społecznego. W rezultacie zaczęto traktować GOZ nie jako koncepcję, lecz jako strategię lub system gospodarczy, dostosowując przepisy prawne i instrumenty ekonomiczne, które umożliwiają jej wdrażanie w wybranych krajach.

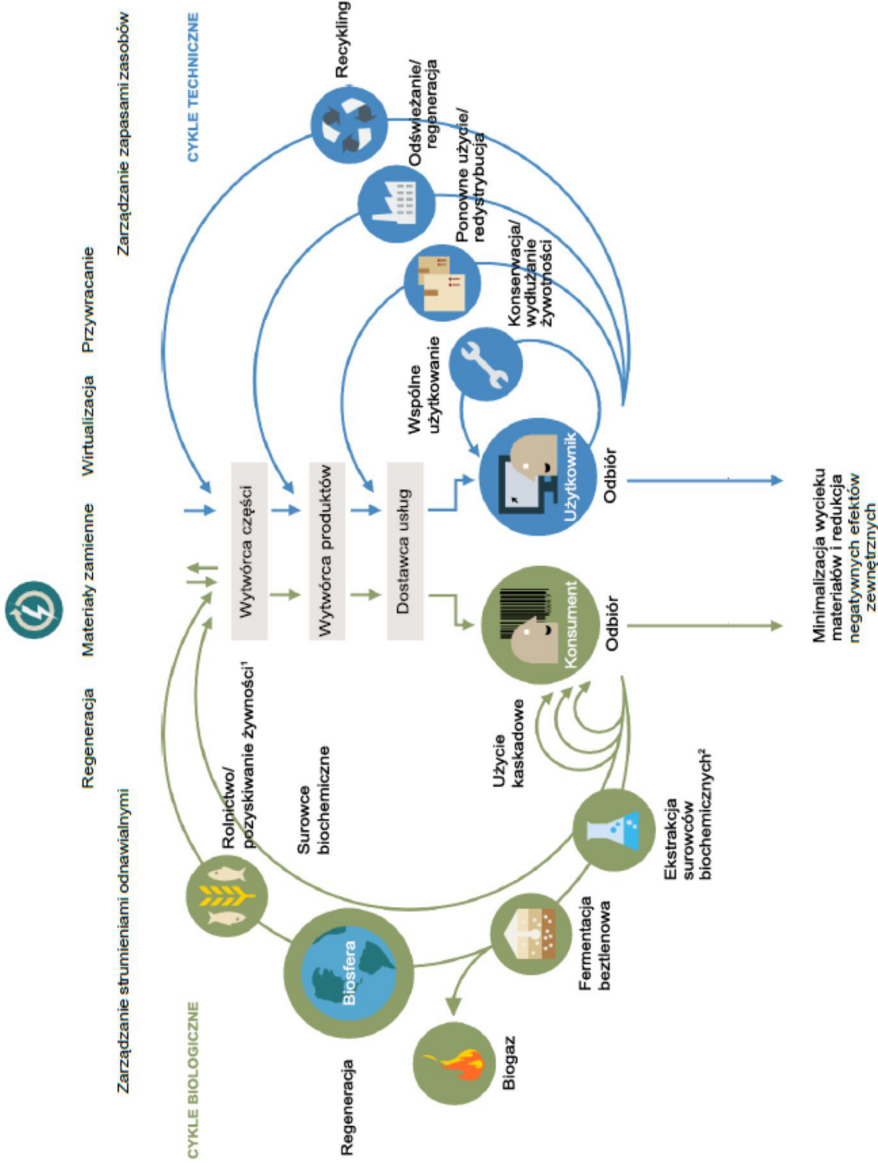
Jedną z najczęściej cytowanych definicji GOZ jest propozycja podana w modelu opracowanym przez Ellen MacArthur Foundation (2013). Według tego modelu gospodarka o obiegu zamkniętym jest systemem przemysłowym, który został zaplanowany i zaprojektowany jako system odtwarzający i regenerujący. Jest on również nastawiony na wykorzystanie energii odnawialnej, eliminację stosowania toksycznych substancji chemicznych oraz usunięcie odpadów poprzez lepsze projektowanie systemów, materiałów i produktów (Ellen MacArthur Foundation, 2013). Model ten zakłada istnienie dwóch cykli: biologicznego (obejmującego surowce odnawialne) i technicznego (obejmującego surowce nieodnawialne) (rysunek 3).

Gospodarka o obiegu zamkniętym dotyczy przede wszystkim działań i obszarów w zakresie:

- osiągnięcia najwyższej wartości dodanej produktów w łańcuchu wartości poprzez między innymi wprowadzanie ekoprojektowania uwzględniającego cały cykl życia produktu, zwiększanie trwałości, podnoszenie jakości, kaskadowe wykorzystywanie produktów, podnoszenie efektywności procesów, promowanie współpracy w łańcuchu wartości, współdzielenie, powszechne wykorzystywanie materiałów odnawialnych, wirtualizację; minimalizowania odpadów poprzez ponowne użycie, recykling i wdrożenie pełnego odzysku produktów ubocznych, w szczególności traktowanie ich jako potencjalnego źródła surowców wtórnych;
- wprowadzenia polityki finansowej wspierającej rozwój nowych technologii, procesów i usług, jak również inwestycji i rozwiązań organizacyjnych w kierunku GOZ (z uwzględnieniem innowacji i eko-innowacji);
- zwiększania świadomości ekologicznej poprzez edukację i promowanie zrównoważonej konsumpcji (Kulczycka, 2019).

Wobec wyczerpywania się zasobów surowców nieodnawialnych, wzrostu ich cen i rosnącej zależności Polski od ich dostaw z zagranicy konieczne było podjęcie działań i opracowanie koncepcji GOZ również w Polsce. W tym celu podmioty własności państwowej, samorządowej, a także mieszanej (sektor publiczny), aby podkreślić istotę spójności działań w zakresie wdrażania GOZ z działaniami w innych obszarach rozwoju społeczno-gospodarczego w Polsce, przygotowały mapę drogową transformacji w kierunku gospodarki o obiegu zamkniętym. Mapa drogową GOZ ma służyć jako drogowskaz dla rozwoju tego systemu gospodarki w kraju, wskazując konieczność podjęcia określonych działań horyzontalnych, których rozwój umożliwi wykorzystanie szans stojących przed Polską, a jednocześnie będzie stanowić odpowiedź na obecnie istniejące lub spodziewane zagrożenia. Podstawą tej koncepcji jest założenie, że wszystkie elementy łańcucha produkcyjnego (produkty, materiały oraz surowce) mają pozostawać w gospodarce tak długo, jak tylko jest to możliwe, a wytwarzanie odpadów powinno być zminimalizowane. Celem jest stworzenie zrównoważonej, niskoemisyjnej, zasobooszczędnej i konkurencyjnej gospodarki. Model gospodarki linearnej, oparty na zasadzie „weź – wyprodukuj – zużyj – wyrzuć”, ma być zastępowany modelem gospodarki o obiegu zamkniętym, który uwzględnia wszystkie etapy życia produktu – od pozyskania surowca, przez projektowanie produktu, jego produkcję, konsumpcję, zbieranie odpadów, aż do ich zagospodarowania.

Nieustanny rozwój przemysłu spożywczego wiąże się nie tylko z powstawaniem coraz to nowych produktów, ale także różnego rodzaju odpadami i produktami ubocznymi. Obowiązująca w Polsce Ustawa z dnia 14 grudnia 2012 r.



¹ Rybołówstwo i myślistwo.

² Materiał wejściowy mogą stanowić odpady pożywne i pokosmupcyjne.

Rysunek 3. Gospodarka o obiegu zamkniętym

Źródło: (Ellen MacArthur Foundation, b.d.).

o odpadach (Dz.U. 2013, poz. 21) zawiera definicje odpadu i produktu ubocznego. Jako odpad ustawa określa: „każdą substancję lub przedmiot, których posiadacz pozbywa się, zamierza się pozbyć lub do których pozbycia się jest zobowiązany”, natomiast produktem ubocznym jest: „przedmiot lub substancja, powstające w wyniku procesu produkcyjnego, którego podstawowym celem nie jest ich produkcja”. Aby przedmiot lub substancja zostały uznane za produkt uboczny, muszą zostać spełnione łącznie następujące warunki:

- dalsze wykorzystywanie przedmiotu lub substancji jest pewne;
- przedmiot lub substancja mogą być wykorzystywane bezpośrednio bez dalszego przetwarzania, innego niż normalna praktyka przemysłowa;
- dany przedmiot lub substancja są produkowane jako integralna część procesu produkcyjnego;
- dana substancja lub przedmiot spełniają wszystkie istotne wymagania, w tym prawne, w zakresie produktu, ochrony środowiska oraz życia i zdrowia ludzi, dla określonego wykorzystania tych substancji lub przedmiotów i wykorzystanie takie nie doprowadzi do ogólnych negatywnych oddziaływań na środowisko, życie lub zdrowie ludzi (Ustawa z dnia 14 grudnia 2012 r. o odpadach).

W 2016 roku łączna ilość odpadów wytworzonych w UE-28 przez wszystkie sektory gospodarki i gospodarstwa domowe wyniosła 2538 mln ton (Eurostat, 2019). Hierarchia postępowania z odpadami zasadniczo decyduje o kolejności priorytetów tego, co stanowi najlepsze z punktu widzenia środowiska przyrodniczego całościowe rozwiązanie w zakresie przepisów prawnych dotyczących odpadów. Odstępstwo od takiej hierarchii może być konieczne w przypadku określonych strumieni odpadów, jeżeli jest to uzasadnione między innymi wykonalnością techniczną, opłacalnością ekonomiczną i ochroną środowiska przyrodniczego (Dyrektywa Parlamentu Europejskiego i Rady 2008/98/WE z dnia 19 listopada 2008 r. w sprawie odpadów oraz uchylająca niektóre dyrektywy). W prowadzeniu gospodarki odpadami określono cele priorytetowe polityki dotyczącej odpadów w Unii Europejskiej polegające na:

- zmniejszeniu ilości wytwarzanych odpadów;
- maksymalizacji recyklingu i ponownego wykorzystywania;
- ograniczeniu spalania materiałów nienadających się do recyklingu;
- ograniczeniu składowania odpadów nienadających się do recyklingu ani odzysku;
- zapewnieniu pełnego wdrożenia celów polityki dotyczącej odpadów we wszystkich państwach członkowskich UE (Eurostat, 2019).

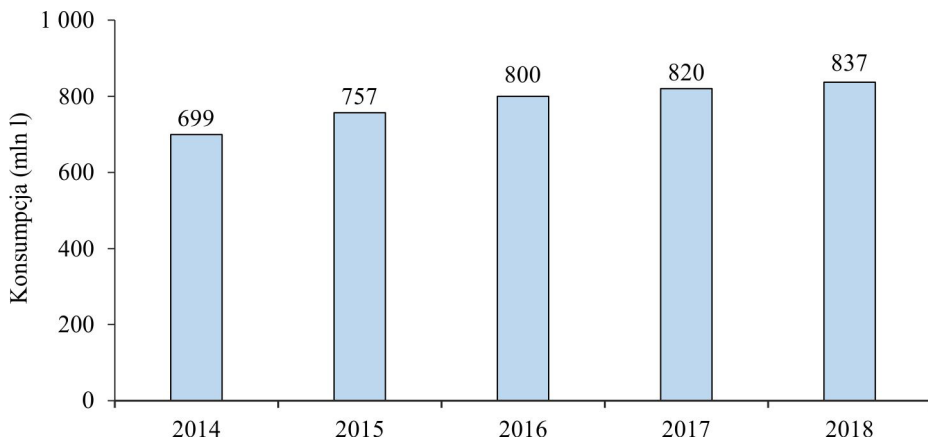
Obecnie narasta problem marnotrawienia żywności, obejmujący wszystkie sektory gospodarki odpadami. Według danych Organizacji Narodów Zjedno-

czonych ds. Wyżywienia i Rolnictwa (Food and Agriculture Organization of the United Nations – FAO) na świecie co roku marnuje się 1,3 mld ton żywności nadającej się do spożycia, co stanowi jedną trzecią produkowanej żywności (Food and Agriculture Organization of the United Nations [FAO], 2013). Udział traconych i marnowanych owoców i warzyw stanowi około 44% (Baldwin, 2015). Straty i marnotrawstwo żywności to coraz poważniejszy problem globalny, przejawiający się w całym łańcuchu rolno-żywnościowym, począwszy od produkcji podstawowej, poprzez przechowywanie u producenta i transport do zakładu, przetwórstwo, transport i magazynowanie oraz dystrybucję, skończywszy na konsumpcji w gospodarstwach domowych i obiektach zbiorowego żywienia. Najważniejszym elementem w hierarchii postępowania ze stratami i marnotrawstwem żywności jest zapobieganie ich powstawaniu, ponieważ ograniczenie strat i marnotrawstwa żywności ma ogromny potencjał w zakresie zapewnienia trwałego bezpieczeństwa żywnościowego i żywieniowego, zmniejszenia emisji gazów cieplarnianych i zmniejszenia wpływu na środowisko przyrodnicze przez poprawę efektywności wykorzystania zasobów naturalnych. Działanie to niewątpliwie jest potrzebne, ale problem strat i marnotrawstwa żywności nadal pozostaje.

Odpady z przemysłu owocowego powstają zarówno w trakcie przygotowywania surowców do przetwórstwa, jak i podczas właściwego procesu technologicznego. Ich wytwarzanie jest nieuniknione. Głównymi przyczynami powstawania odpadów przy produkcji owoców i warzyw oraz ich dystrybucji są obicia, uszkodzenia skórki, starzenie się, wędnięcie i gnicie. Niektóre z nich są wynikiem nieostrożnego obchodzenia się z surowcem podczas zbioru, sortowania i nieodpowiedniego pakowania.

Głównym źródłem odpadów stałych w przetwórstwie owoców jest proces tłoczenia. Przetwórstwo owoców jest dobrze rozwiniętą gałęzią polskiego przemysłu spożywczego. Zgodnie z raportem rynkowym opracowanym przez AIJN European Fruit Juice Association (2019) konsumpcja soków i nektarów w Polsce w 2018 roku wyniosła 837 mln litrów, a tym samym wzrosła o 2% w stosunku do 2017 roku, zaś konsumpcja samych soków wzrosła w tym okresie o 3,5% (rysunek 4). W stosunku do 2014 roku konsumpcja soków i nektarów wzrosła w Polsce w 2018 roku o blisko 20%, zachowując coroczny wzrost w analizowanym okresie 2014–2018. Rodzimy rynek wyróżnia się na tle pozostałych europejskich rynków. Polska zajmuje czwarte miejsce w rankingu wielkości spożycia soków i nektarów, między innymi dzięki rosnącemu rynkowi soków NFC (*not from concentrate*), kampaniom promocyjnym oraz marketingowym. Trzy pierwsze miejsca w rankingu zajęły: Niemcy, Francja oraz Wielka Brytania. Spożycie soków i nektarów w Polsce w 2018 roku było powyżej średniej unijnej, tj. 21,8 litra na osobę na rok (średnia UE – 17,6 litra) (AIJN European Fruit Juice Association, 2019). Z raportu rynkowego AIJN European Fruit Juice

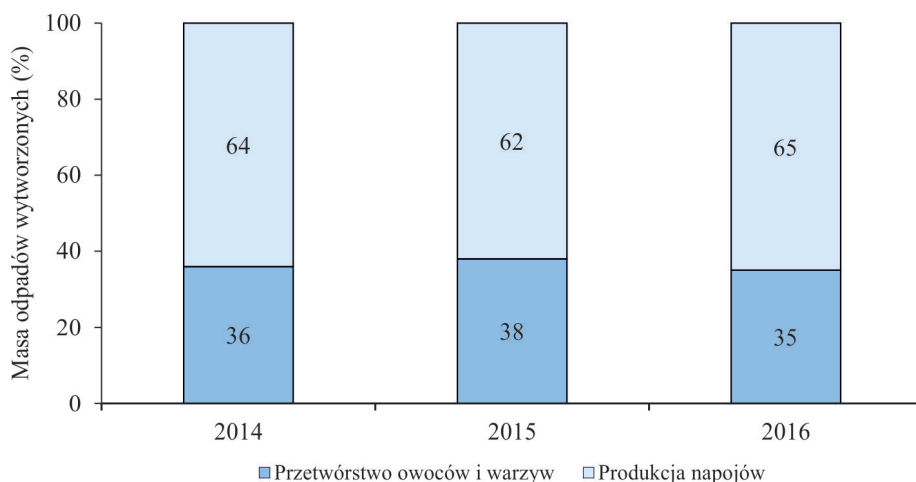
Association (2019) wynika, że konsumpcja soków w Europie spadła o około 1% w 2018 roku w porównaniu z 2017 rokiem, w przeciwieństwie do opisanego wcześniej trendu dotyczącego konsumpcji w Polsce. Z zależności tej wynika, że przetwórstwo owoców w Europie przechodzi transformację w kierunku produktów naturalnych i niskoprotworzonych. Są to jednak produkty dużo bardziej narażone na niekorzystne oddziaływanie czynników biologicznych, chemicznych i fizycznych aniżeli produkty wysokoprotworzone. Na współczesnym rynku produktów żywnościowych nieustannie zachodzą zmiany, głównie za sprawą zmieniających się preferencji konsumentów, jak również konkurujących ze sobą jednostek produkcyjnych. Przedsiębiorstwa dostrzegają, że wprowadzenie innowacji stało się już koniecznością, aby utrzymać się na rynku. Zmiany te wymuszają stosowanie złożonych mechanizmów adaptacyjnych, uwzględniających ewolucję i transformację potrzeb żywieniowych konsumentów, wzrastającą konkurencję, nowoczesne sposoby komunikowania się oraz ekspansję nowych technologii. Ciągły proces dostosowywania oferty do oczekiwań konsumentów wymaga zmian w myśleniu menedżerów przedsiębiorstw sektora żywnościowego, a także zmian organizacyjnych, zarządczych oraz modyfikacji przyjętych strategii i opracowywania nowych.



Rysunek 4. Konsumpcja soków i nektarów w Polsce w latach 2014–2018

Źródło: Na podstawie (AIJN European Fruit Juice Association, 2019).

Z produkcją soków wiąże się powstawanie odpadów / produktów ubocznych. Na podstawie danych Głównego Urzędu Statystycznego wynika, że ilość odpadów w latach 2014–2016 w przetwórstwie owoców i warzyw, z wyłączeniem odpadów komunalnych, kształtowała się na poziomie 35–38%, natomiast w produkcji napojów 62–65% (rysunek 5).



Rysunek 5. Masa odpadów wytworzonych w przetwórstwie owoców i warzyw oraz produkcji napojów w latach 2014–2016

Źródło: Na podstawie (GUS, 2015, 2016b, 2017).

Do podstawowej grupy odpadów z przetwórstwa owoców i warzyw zalicza się wyłoki z produkcji soków i koncentratów, na które składają się nasiona, resztki miąższu oraz skórki. Branże zajmujące się produkcją napojów wytwarzają stosunkowo duże ilości wyłoków (20–60%) w stosunku do masy surowca (Amaya-Cruz i in., 2015; Padayachee i in., 2017). Blisko 90% produktów ubocznych z przetwórstwa owoców i warzyw jest usuwanych jako odpady i najczęściej kompostowanych. Ilość produktów ubocznych w przetwórstwie owoców i warzyw w najbliższych latach będzie stopniowo wzrastać, a ich utylizacja będzie jednym z poważniejszych problemów. Przekształcanie takich produktów ubocznych w składniki produktów spożywczych i nowe produkty może pomóc w zwiększeniu zysków i zrównoważonego rozwoju (Kowalska i in., 2017). Ponadto rosnące zainteresowanie możliwościami ponownego wykorzystania produktów ubocznych z przetwórstwa owoców wynika nie tylko z ich obciążenia dla środowiska, lecz także z faktu, że mogą one stanowić źródło cennych, niekiedy dotychczas nieznanych lub pomijanych składników, których nie było warto pozyskiwać lub nie w pełni doceniano ich walory (Aschoff i in., 2015). Koncepcja zagospodarowania produktu ubocznego doskonale wpisuje się w promowaną na poziomie unijnym gospodarkę obiegu zamkniętego.

2.2. Kierunki wykorzystania produktów ubocznych przetwórstwa owoców

Wyniki badań wielu autorów wskazują, że produkty uboczne przemysłu owocowego mają silne właściwości przeciwutleniające, ponieważ stanowią bogate źródło między innymi flawonów, flawonoli, antocyjanów, stilbenów (Nowshetri i in., 2015; Padayachee i in., 2017; Sarkar i Kaul, 2014). Ich stosowanie w funkcjonalnym opracowywaniu różnych produktów może być skuteczne w przypadku chorych na cukrzycę, nowotwory, wrzody i miażdżycę (Sudha i in., 2016). W związku z tymi atrybutami podejmowane są działania zbieżne z trendem ukierunkowanym na poszukiwanie naturalnych związków o właściwościach przeciwutleniających, które można stosować w przemyśle kosmetycznym, farmaceutycznym i spożywczym zarówno jako wartość dodaną, najczęściej w postaci naturalnych ekstraktów, jak i w celu promowania zrównoważonego rozwoju (Chacko i Estherlydia, 2014).

Bobinaite i in. (2016) stwierdzili, że dodatek ekstraktu z wyłoków malinowych (2%) do przecierów owocowych spowodował niemal trzykrotny wzrost całkowitej zawartości polifenoli ogółem, poprawiając tym samym właściwości użytkowe produktów. Autorzy wykazali, że zawartość polifenoli zawartych w ekstrakcie z wyłoków nie uległa redukcji podczas produkcji przecieru. Jednocześnie gorzkie i cierpkie smaki oraz posmaki stawały się intensywniejsze wraz ze wzrostem stężenia ekstraktu z wyłoków w przecierze. Dlatego rekomendowali stosowanie stężenia ekstraktu z wyłoków malin w przecierze do poziomu 1,6% (Bobinaite i in., 2016).

Według Goldmeyer i in. (2014) mąka z wyłoków jagodowych może być stosowana do produkcji napojów fermentowanych. Wykazuje ona stabilność mikrobiologiczną w czasie przechowywania oraz bardzo dobre właściwości technologiczne (odpowiednią wilgotność, zawartość białka, lipidów i popiołu, pH i zawartość części stałych rozpuszczalnych), co umożliwia jej wykorzystanie do tworzenia nowych produktów. Z kolei produkty uboczne jabłek są uważane za jedno z najbardziej praktycznych rozwiązań do produkcji pektyn. Z wyłoków jabłkowych można wytwarzać preparaty bezglutenowe (Parra i in., 2015). Są one również dobrym źródłem błonnika, zwłaszcza frakcji nierozpuszczalnej, który można wykorzystać do przygotowania produktów niskokalorycznych, ze względu na wysoką zdolność polisacharydów do wiązania wody (Sharma i in., 2017).

Ostatnie lata przyniosły znaczący rozwój wiedzy w zakresie wpływu na zdrowie sztucznych barwników dodawanych do żywności, co spowodowało gwałtowny wzrost zainteresowania naukowców, producentów i konsumentów barwnikami naturalnymi. Powstające obawy w stosunku do spożywania

produktów zawierających syntetyczne barwniki, w zakresie ich możliwego negatywnego oddziaływania na funkcje neurologiczne oraz zachowania behawioralne, jak również zwiększone zapotrzebowanie na dodatki do żywności naturalnej, cechującej się niskim stopniem przetworzenia, doprowadziły do stosowania produktów ubocznych z przetwórstwa owoców jako alternatywnego źródła naturalnych barwników (McCann i in., 2007; Medina-Meza i Ganjyal, 2017). Barwniki te powinny się charakteryzować neutralnym smakiem i zapachem, nie mogą wykazywać negatywnego wpływu na zdrowie ludzi. Pod uwagę muszą być również brane warunki ich legalizacji i rodzaj przetwarzanych surowców. Do naturalnych barwników, które spełniają wymagania określone prawem legislacyjnym i są dopuszczone do użytku, należą między innymi antocyjany i betalainy. Ze względu na ich intensywną czerwono-fioletową barwę znalazły one zastosowanie jako dodatki do żywności: E163 (antocyjany) i E162 (betanina, czerwień buraczana), do produkcji preparatów leczniczych, barwienia syropów i napojów, w technologii produkcji dżemów jako barwniki lub dodatki wzbogacające produkt w antyoksydanty (Gengatharan i in., 2015; Khoo i in., 2017).

Powszechnie stosowaną i najprostszą metodą zagospodarowania produktów ubocznych z przetwórstwa owoców jest ich wykorzystanie w karmieniu zwierząt gospodarskich (Kasapidou i in., 2015). Dodatek w postaci wyłoków zwiększa walory dietetyczne surowców przeznaczonych do karmienia zwierząt, na przykład mieszanek paszowych. Guil-Guerrero i in. (2016) udowodnili, że dodatek do pasz produktów ubocznych pochodzenia roślinnego (śruty z nasion bawełny, zielonej herbaty, wyłoków jabłek i czerwonego wina), zawierających odpowiednie ilości substancji o właściwościach przeciwdrobnoustrojowych i prozdrowotnych, pozwala ograniczyć stosowanie antybiotyków. Zastosowane produkty uboczne wpłynęły na mikrobiom jelitowy zwierząt poprzez zmniejszenie liczby bakterii z grupy coli w jelicie krętym. Z kolei Gerasopoulos i in. (2015) wykazali możliwość stosowania paszy z dodatkiem polifenoli pozyskanych z produktów ubocznych przetwarzania ścieków z tłoczni oliwek w celu poprawy potencjału redoks we krwi i tkankach prosiąt.

Produkty uboczne z przetwórstwa owoców odgrywają również ważną rolę w produkcji tzw. zielonej energii, która jest promowana na całym świecie w odpowiedzi na rosnące obawy związane ze zmianami klimatycznymi i zapotrzebowaniem na energię elektryczną. Do produkcji energii niekonwencjonalnej wykorzystuje się biogaz. Otrzymuje się go w procesie fermentacji metanowej przy użyciu między innymi pozostałości poprodukcyjnych z przetwórstwa owoców jako kosubstratów. Zastosowanie kosubstratów umożliwia właściwe obciążenie komory fermentacyjnej, optymalizuje kinetykę procesu fermentacji metanowej poprzez lepszą konfigurację proporcji węgla do azotu, podnosząc jej efektywność i opłacalność ekonomiczną. Produkty uboczne zastosowane w procesie fermentacji są tanim surowcem dla biogazowni i zapewniają wysoki

potencjał energetyczny. Wykorzystywany do produkcji energii biogaz zwiększa możliwość wypełnienia przez Polskę Narodowych Celów Wskaźnikowych oraz postanowień Pakietu Klimatyczno-Energetycznego (Komisja Europejska, 2020; Yono i in., 2018).

Potrzeba zrównoważonego wykorzystania surowców jest zgodna z celami ochrony środowiska. Różne gałęzie przemysłu w coraz większym stopniu są zainteresowane wykorzystaniem związków bioaktywnych zawartych w produktach ubocznych przetwórstwa owoców, stanowiących bogate źródło składników odżywczych i funkcjonalnych. Dlatego wykorzystanie tych pozostałości, zarówno w celu ograniczenia skutków ich gromadzenia się w środowisku, jak i tworzenia nowych produktów o korzystnych właściwościach zdrowotnych, jest celem wielu prac badawczo-rozwojowych finansowanych w ramach funduszy unijnych.

2.3. Wytłoki aronii jako źródło substancji o cechach prozdrowotnych

Aronia należy do rodziny różowatych (*Rosaceae*). Pod względem botanicznym do rodzin z rodzaju aronia zalicza się dwa gatunki: aronię czarnoowocową (*Aronia melanocarpa* [Michx.] Elliot) oraz aronię czerwoną (*Aronia arbutifolia* [L.] Pers). Jako trzeci gatunek klasyfikuje się hybrydę aronii czerwonej i czarnoowocowej – aronię śliwolistną (*Aronia prunifolia*). Najbardziej rozpowszechnionym gatunkiem na wszystkich plantacjach jest aronia czarnoowocowa. Naturalne stanowiska występowania aronii czarnoowocowej znajdują się na terenie Ameryki Północnej, a także w krajach Europy Środkowo-Wschodniej. W ostatnim dziesięcioleciu popularność aronii czarnoowocowej rozpowszechniła się w Czechach, Słowacji oraz Polsce. W Europie odnotowano sześć popularnych odmian aronii: Nero, Galicjanka, Viking, Fertödi, Hugin i Aron (Jakobek i in., 2012; Tolić i in., 2017). Aronie to wieloletnie krzewy dorastające do wysokości 2–3 m i osiągające do 2,5 m szerokości, łatwe w uprawie ze względu na małe wymagania względem podłoża (Wawer i in., 2012). Liście mają kształt eliptyczny. Są drobne, skórzaste i błyszczące, o ząbkowanych brzegach, osadzone na krótkich ogonkach z dwoma przylistkami. W okresie jesiennym przebarwiają się na żółtopomarańczowy i purpurowy kolor.

Kwiaty aronii są zebrane w baldachogrona, są obupłciowe, koloru białego lub białoróżowego. Świeżo rozwinięte kwiaty posiadają pręciki z fioletowymi pylnikami (rysunek 6). Kwiaty są owadopylne, ale w przypadku niesprzyjających warunków może dochodzić do samozapylenia (Szopa i in., 2017).

Cechy morfologiczne owoców w obrębie gatunków aronii są cechami diagnostycznymi, pozwalającymi na ich rozróżnienie. Owoce aronii czarnoowocowej



Rysunek 6. Cechy morfologiczne *Aronia melanocarpa* [Michx.] Elliot: pokrój rośliny, kwiaty, dojrzałe owoce

Źródło: Fotografie własne.

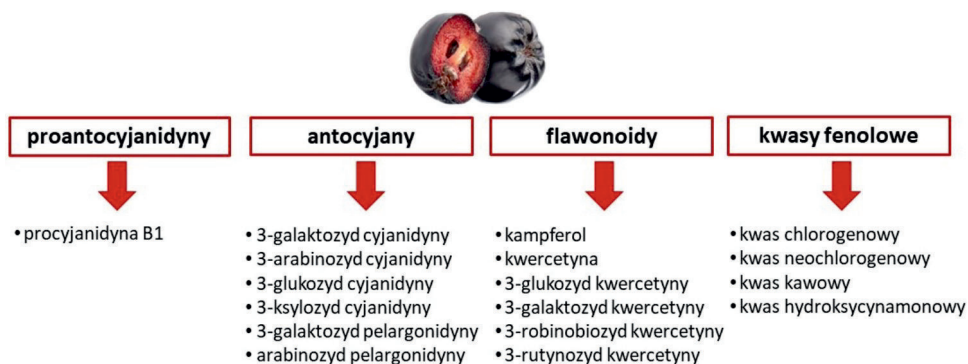
mają ciemnogrnatowe zabarwienie z charakterystycznym woskowym nalotem (rysunek 6). W zależności od odmiany ich średnica waha się od 6,1 mm do 17,8 mm, natomiast masa 100 owoców od 32 g do 111,7 g, a niekiedy może osiągnąć nawet do 280 g (Ochmian i in., 2012). Okres dojrzewania owoców aronii różni się w zależności od gatunku. Owoce aronii czarnoowocowej uzyskują dojrzałość w warunkach europejskich na przełomie sierpnia i września. Zalecane jest pozostawienie owoców na roślinie jak najdłużej, gdyż poprawia to ich smak. Co charakterystyczne, owoce aronii czerwonej są trwałe w zimie, nie kurczą się i dość długo utrzymują się na krzewach (Celka i Szkudlarz, 2010).

Charakterystyka substancji bioaktywnych występujących w owocach i wyłokach aronii

Wzrastająca liczba doniesień o prewencyjnej roli przeciwutleniaczy znajdujących się w aronii spowodowała wzrost zainteresowania wielu naukowców analizą składu aronii i jej produktów. Sucha masa owoców oraz wyłoków aronii analizowana przez Mayer-Miebach i in. (2012) wynosiła odpowiednio 17,9%–26,0% oraz 44,6%–50,0%. Z kolei Skupień i Oszmiański (2007) określili zawartość suchej masy w owocach na poziomie 26,67%–30,76%. W innych badaniach potwierdzono niską zawartość białka w owocach aronii, która wynosiła 3,7 g/100 g suchej masy owoców (Červenka, 2011). Większość aminokwasów, w tym aminokwasy egzogenne, oznaczono w wyłokach. Ich łączna masa wyniosła 28,9 g/kg s.m. (Pieszka i in., 2015). Całkowita zawartość tłuszczów w świeżych owocach aronii wynosiła 0,09%–0,17% (Lancrajan, 2012). Największe ilości stwierdzono w pestkach i frakcjach skóry (odpowiednio 13,9% oraz 2,9%–9,8%) (Sójka i in., 2013). Zawartość tłuszczów w wyłokach aronii wyniosła 5,5 g/100 g, w tym 65,0% stanowiły wielonienasycone kwasy tłuszczowe (PUFA). Wyłoki zawierały głównie kwas linolowy i oleinowy. Udokumentowano, że olej pozyskany z pestek aronii zawiera sterole i fosfolipidy (Dulf i in., 2012). Cukry i błonnik pokarmowy to główne węglowodany aronii. Badania wykazały, że całkowita

zawartość węglowodanów, w tym cukrów, w świeżych owocach wahała się od 6,21 g do 20,92 g/100 g (Mayer-Miebach i in., 2012; Skupień i Oszmiański, 2007; Šnebergrova i in., 2014). Wytłoki aronii są bogatym źródłem błonnika pokarmowego, który stanowi około 70% suchej masy wytlóków. Ponad 60% błonnika pokarmowego aronii stanowi frakcja nierozpuszczalna (lignina, celuloza, hemiceluloza) (Nawirska i Uklańska, 2008; Wawer i in., 2006). Owoce i wytloki aronii są również źródłem witamin (witaminy B, karotenoidów, tokoferoli, witaminy C, witaminy K) oraz makroelementów (potas, wapń, fosfor, magnez, sód) i mikroelementów (cynk, żelazo, selen, miedź, molibden, chrom, mangan, krzem, nikiel, bor, wanad) (Červenka, 2011; Pavlović i in., 2015; T. Tanaka i A. Tanaka, 2001).

Owoce i wytloki aronii stanowią bogate źródło składników o właściwościach przeciwutleniających. Charakteryzują się bardzo wysoką zawartością polifenoli, a mianowicie proantocyjanidyn, antocyjanów, flawonoidów oraz kwasów fenolowych (rysunek 7). W badaniu, w którym analizowano 143 różne próbki roślin pod kątem zawartości polifenoli, najwyższe zawartości tych związków stwierdzono właśnie w aronii (Ovaskainen i in., 2008).



Rysunek 7. Główne grupy związków biologicznie czynnych o właściwościach przeciwutleniających zawartych w aronii czarnoovocowej

Źródło: Na podstawie (Borowska i Brzóska, 2016).

Szczególną rolę biologiczną w owocach i wytlókach aronii odgrywają związki antocyjanowe. Niepowtarzalność budowy chemicznej antocyjanów ma kluczowe znaczenie dla ich wchłaniania, metabolizmu, biodostępności i działania biologicznego (Prior i Wu, 2006; Wilkes i in., 2013). Antocyjany stanowią około 25% zawartości wszystkich polifenoli występujących w aronii (Oszmiański i Wojdyło, 2005), z czego ponad 60% wszystkich antocyjanów jest zawartych w wytlókach owoców aronii. Związki te występują w postaci glikozydów lub acyloglikozydów antocyjanidyny, nadając wytlókowi aronii barwę czerwoną,

niebieską, purpurową i czarną (Castañeda-Ovando i in., 2009). Jednym z kluczowych czynników wpływających na biologiczne działanie antocyjanów jest wchłanianie tych substancji z przewodu pokarmowego do układu krwionośnego, dzięki czemu związki te wywierają korzystny wpływ na poziomie komórkowym i tkankowym. Antocyjany mają właściwości przeciwutleniające, przeciwzapalne i hipotensyjne (Broncel i in., 2010). Ponadto stwierdzono, że antocyjany obniżają stężenie cholesterolu całkowitego (TC), cholesterolu LDL (LDL-C) i trójglicerydów (TG) oraz hamują ekspresję enzymów odpowiedzialnych za syntezę kwasów tłuszczowych (Gorinstein i in., 2004). Vlachojannis i in. (2015) oszacowali minimalną zalecaną dawkę antocyjanów (110 mg / dziennie) zawartych w ekstraktach z aronii w leczeniu zaburzeń zespołu metabolicznego.

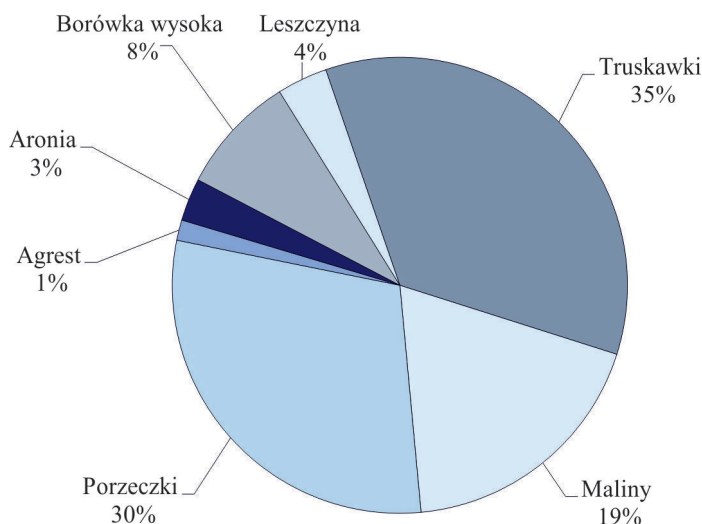
Wielokierunkowe działanie aronii potwierdzone badaniami naukowymi sprawia, że produkty z niej wytwarzane są z powodzeniem stosowane w celach prozdrowotnych oraz pomocniczo w leczeniu wielu chorób cywilizacyjnych. Potencjał przeciwnadciśnieniowy aronii i jej przetworów został udowodniony przez Kardum i in. (2014). Przeprowadziły one 4-tygodniowe badanie, w którym podawały 200 cm³ soku aroniowego dziennie osobom z nieleczonym farmakologicznie wysokim prawidłowym ciśnieniem krwi (BP) i nadciśnieniem pierwszego stopnia. Wynikiem tego było istotne obniżenie skurczowego (SBP) i rozkurczowego ciśnienia krwi (DBP). Zmniejszenie SBP i DBP było bardziej wyraźne, gdy przestrzegano regularnego spożywania soku aroniowego. Broncel i in. (2010) wykazali znaczne zmniejszenie zarówno SBP, jak i DBP po dwóch miesiącach spożywania 300 mg ekstraktu z aronii dziennie u pacjentów z zespołem metabolicznym. Wyniki z przeprowadzonych badań wykazały potencjał ekstraktu przy jego długotrwałym spożywaniu, chociaż zalecano również okresowe przerwy w jego przyjmowaniu.

Wiele prac naukowych potwierdziło pozytywny wpływ ekstraktów z owoców aronii na zapobieganie i przebieg cukrzycy typu II oraz zapobieganie zespołowi metabolicznemu. Zespół ten jest przewlekłą chorobą zapalną charakteryzującą się podwyższonym ciśnieniem krwi, wysokim poziomem glukozy na czczo w osoczu, wysokim stężeniem trójglicerydów w surowicy i niskim poziomem lipoprotein o dużej gęstości (HDL) w osoczu. Wykazano, że włączenie do diety osób chorych na cukrzycę typu II produktów z aronii spowodowało obniżenie wysokiego poziomu glukozy we krwi oraz miało korzystny wpływ na poziom hemoglobiny glikowanej HbA1c, cholesterolu i lipidów. Stwierdzono, że zawarty w soku i ekstraktach z aronii arabinozyd-3-cyjanidyny hamuje aktywność α -glukozydazy – enzymu biorącego udział w rozkładzie węglowodanów. Z kolei kwas chlorogenowy stymuluje metabolizm glukozy i lipidów (Chrubasik i in., 2010; Jurikova i in., 2017; Meng i in., 2013; Parzonko i Naruszewicz, 2016).

Badania na modelach zwierzęcych i modelach *in vitro* pokazują, że ekstrakty z aronii i inne produkty z owoców aronii odgrywają istotną rolę w mechanizmie zapobiegania nowotworom ze względu na silne działanie antyoksydacyjne (Balansky i in., 2012; Li i in., 2012; Pratheeshkumar i in., 2014; Thani i in., 2014). Polifenole zawarte w aronii chronią zdrowe komórki przed uszkodzeniami oksydacyjnymi wywołanymi przez wolne rodniki, wykazują się działaniem proapoptotycznym, które umożliwia obumieranie komórek ze zmianami rakotwórczymi oraz mają zdolność do zatrzymania cyklu komórkowego komórek nowotworowych (Sharif i in., 2012; Shih i in., 2007). W badaniach *in vitro* potwierdzono hamowanie przez ekstrakty oraz sok z owoców aronii komórek raka jelita grubego HT-29 oraz Caco-2. Wzrost komórek HT-29 został zahamowany (o około 50%) po 48-godzinym podawaniu ekstraktu z aronii, zawierającego 25 μg antocyjanów na cm^3 . Natomiast ekstrakt z winogron był skuteczny dopiero przy stężeniu 75 μg antocyjanów na cm^3 i zahamował wzrost komórek o 35% po 48 godzinach. Ekstrakt z borówki czarnej był skuteczny przy zastosowaniu stężenia 25 μg antocyjanów na cm^3 , natomiast po 48-godzinnej kuracji hamował wzrost komórek HT-29 tylko o 25% (Zhao i in., 2004). Właściwości przeciwnowotworowe soku z aronii odnotowano również w komórkach nowotworowych okrężnicy Caco-2, gdzie sok hamował proliferację komórek (od 30% do 40%) i ich żywotność (o 20%). Zahamowanie proliferacji komórek przez sok z aronii może się łączyć z zatrzymaniem cyklu komórkowego w fazie G2/M i zwiększeniem ekspresji supresora nowotworu cząsteczki adhezji komórkowej związanej z antygenem rakowo-śródowym (Bermudez-Soto i in., 2007). Wykazano również działanie antyoksydacyjne ekstraktu z aronii u kobiet chorych na raka piersi. Podanie ekstraktu z aronii (50 μg antocyjanów/ cm^3) pacjentkom dotkniętym rakiem piersi przywróciło poziom niskocząsteczkowych tioli (fizjologicznych zmiataczy wolnych rodników) w osoczu do poziomu obserwowanego u osób zdrowych (Kędzierska i in., 2013; Olas i in., 2010).

Ekonomiczne uwarunkowania produkcji i konsumpcji owoców jagodowych, w tym aronii

W Polsce od wielu lat dużą popularnością wśród plantatorów cieszy się uprawa owoców aronii czarnoowocowej, co stawia Polskę w roli światowego potentata w ich produkcji. Powierzchnia uprawy aronii w Polsce w 2019 roku stanowiła 3% powierzchni wszystkich upraw owocowych (rysunek 8). Strukturę powierzchni upraw najpopularniejszych owoców z krzewów owocowych i plantacji jagodowych w Polsce w 2019 roku przedstawiono na rysunku 8. Według danych Krajowego Zrzeszenia Plantatorów Aronii Polska jest niekwestionowanym liderem w produkcji aronii oraz eksporterem jej półproduktów na świecie. W 2019 roku około 70% światowej produkcji aronii pochodziło z Polski.



Rysunek 8. Struktura powierzchni upraw owoców z krzewów owocowych i plantacji jagodowych w Polsce w 2019 roku

Źródło: Na podstawie (Plichta, 2020).

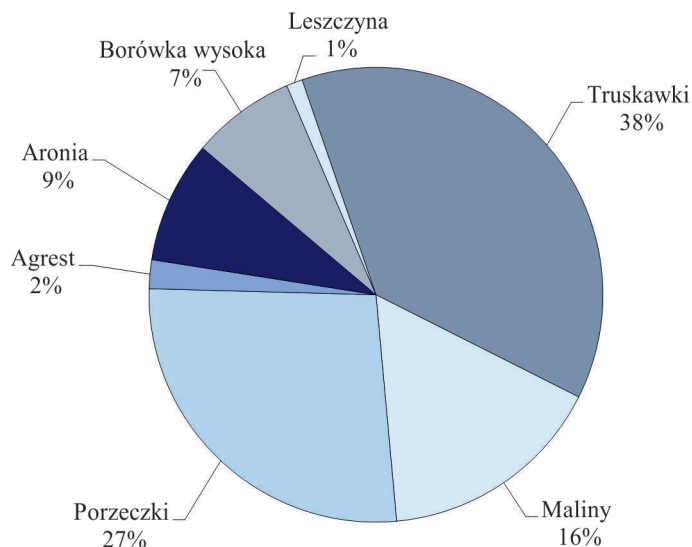
Wielkości zbiorów owoców jagodowych w Polsce w latach 2015–2019 ulegały istotnym zmianom (tabela 4). W 2019 roku zbiory owoców z krzewów owocowych oraz plantacji jagodowych wyniosły niespełna 0,5 mln ton, czyli o blisko 18% mniej od rekordowego poziomu zbiorów z roku poprzedzającego. Plonowanie większości gatunków, w tym owoców aronii, zostało ograniczone przez niekorzystne warunki agrometeorologiczne oraz przesilenie drzew i krzewów owocowaniem w poprzednim rekordowym sezonie. Wielkość zbiorów aronii w 2019 roku wyniosła 40,8 tysięcy ton, co oznaczało spadek o blisko 19% w porównaniu z 2018 rokiem. Wielu plantatorów nie zdecydowało się na zbiór, mając świadomość, że nie zwrócą się koszty. W przypadku aronii najniższy poziom zbiorów w analizowanym okresie odnotowano w 2015 roku – na poziomie poniżej 40 tysięcy ton. Było to spowodowane niskimi cenami skupu oraz ograniczoną liczbą zatrudnionych pracowników przy zbiorach, co skutkowało tym, że część owoców nie została zebrana.

Poziom zróżnicowania rynku owoców jagodowych w Polsce w 2019 roku ukazuje struktura zbiorów najpopularniejszych owoców jagodowych (rysunek 9). Największy odsetek produkowanych owoców stanowiły truskawki (38%), natomiast aronia znalazła się na czwartym miejscu, po porzeczkach (27%) i malinach (16%), osiągając 9% wszystkich zbiorów z krzewów owocowych i plantacji jagodowych. Większość zbiorów aronii trafia na eksport. Głównymi odbiorcami aronii z Polski są Korea Południowa, Japonia i Chiny.

Tabela 4. Wielkość zbiorów wybranych owoców jagodowych w Polsce w latach 2015–2019 (tys. ton)

Owoce jagodowe	Wielkość zbiorów owoców w poszczególnych latach					2019
	2015	2016	2017	2018	2019	2018 = 100
Truskawki	204,9	197,0	177,9	195,6	177,0	90,5
Maliny	78,3	129,1	104,5	115,6	75,7	65,4
Porzeczki	154,2	166,1	128,8	164,6	126,2	76,6
Agrest	10,8	12,5	9,5	11,5	9,6	83,5
Aronia	37,0	49,2	48,6	50,2	40,8	81,3
Borówka wysoka	13,4	14,7	16,3	25,3	34,8	137,4
Leszczyna	5,2	5,5	4,6	6,6	5,4	81,8
Suma	503,8	574,1	490,2	569,4	469,5	121,3

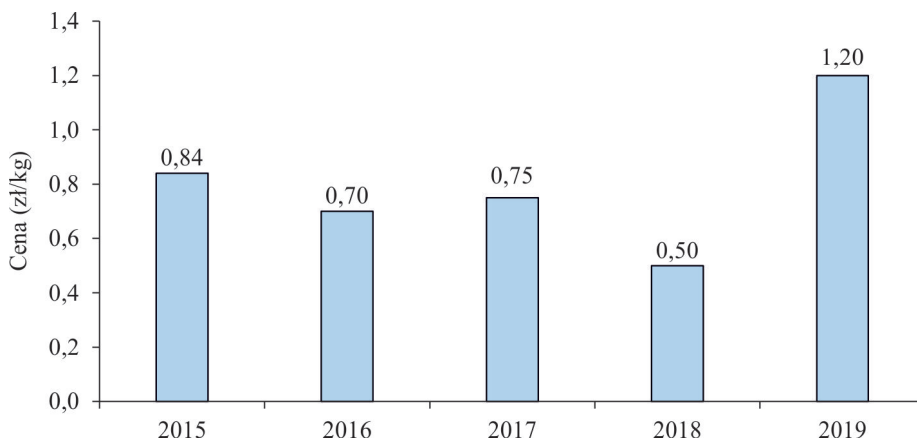
Źródło: Na podstawie (GUS, 2020).



Rysunek 9. Struktura zbiorów owoców z krzewów owocowych i plantacji jagodowych w Polsce w 2019 roku

Źródło: Na podstawie (GUS, 2020).

Opłacalność produkcji aronii zależy nie tylko od nakładów pieniężnych poniesionych na coroczne prowadzenie plantacji, lecz przede wszystkim od cen skupu i wysokości plonów. W latach 2015–2018 cena skupu owoców aronii była dla plantatorów dość niska i nie przekroczyła 1 zł za kilogram. Cena aronii wyraźnie wzrosła w 2019 roku do poziomu 1,20 zł/kg, tj. o 240% więcej niż w 2018 roku z powodu około pięciokrotnie niższych zbiorów (rysunek 10).



Rysunek 10. Ceny płacone producentom za owoce aronii w latach 2015–2019

Źródło: Na podstawie (Plichta, 2020).

Aronia nie jest powszechnie spożywana w stanie surowym z uwagi na mało pożądane cechy organoleptyczne (cierpkość i kwaśność), w związku z czym jest przetwarzana między innymi na soki, dżemy, herbaty owocowe czy wina. Obserwacja ofert na rynku produktów zawierających owoce aronii pozwala zauważyć, że najczęściej wytwarzanymi produktami z tych owoców są soki pasteryzowane. Wiele prac badawczych ukierunkowano głównie na ocenę potencjału owoców aronii i wyciżonych z nich soków. Znacznie mniejszy udział w literaturze stanowią badania nad właściwościami funkcjonalnymi wyciżków aronii, a także nad ich pełniejszym wykorzystaniem jako surowców wtórnych. Wyciżki aronii charakteryzują się wysoką zawartością związków biologicznie czynnych o właściwościach przeciwutleniających. Dlatego gdy rozpatruje się możliwości pełnego zagospodarowania produktów ubocznych przetwórstwa aronii, na szczególne zainteresowanie zasługuje opracowanie i zoptymalizowanie odzyskania tych cennych składników.



3. Proces pozyskania substancji o cechach prozdrowotnych

3.1. Techniki pozyskania substancji o cechach prozdrowotnych

Wiele współczesnych przedsiębiorstw specjalizujących się w produkcji żywności funkcjonalnej stosuje surowce, które mają przede wszystkim wzbogacać produkt substancjami o cechach prozdrowotnych dostosowanymi do aktualnych trendów konsumenckich i odpowiadającymi potrzebom naukowo uzasadnionej profilaktyki żywieniowej. Koncepcja stosowania w żywności substancji o cechach prozdrowotnych wywołała szereg silnych bodźców strategicznych wśród producentów żywności, ponieważ stosowanie tego typu dodatków prozdrowotnych:

- stwarza możliwość zwiększenia atrakcyjności wytwarzanych produktów,
- umożliwia rozwinięcie działalności innowacyjnej we wprowadzaniu na rynek nowych atrakcyjnych wyrobów, które w sposób istotny różnią się od dotychczasowych produktów,
- umożliwia otrzymanie znacznie większego zysku aniżeli przy produkcji powszechnie dostępnej żywności.

Podwyższona jakość zdrowotna żywności funkcjonalnej wynika głównie z obecności w jej składzie składników bioaktywnych o właściwościach przeciwutleniających, stymulujących pożądaną przebieg przemian metabolicznych oraz z optymalnej fizjologicznie proporcji poszczególnych składników bioaktywnych. Narodowe Instytuty Zdrowia Stanów Zjednoczonych zdefiniowały związki bioaktywne jako substancje chemiczne występujące w żywności lub w suplementach diety, które są inne niż te niezbędne do zaspokojenia podstawowych potrzeb żywieniowych (odżywczych i energetycznych) i odpowiadają za zmiany stanu zdrowia (National Institutes of Health, 2004). Substancje bioaktywne powstają w wyniku przemian fizjologicznych, które następnie klasyfikuje się do przemian pierwotnych (pierwszego stopnia) i wtórnych (drugiego

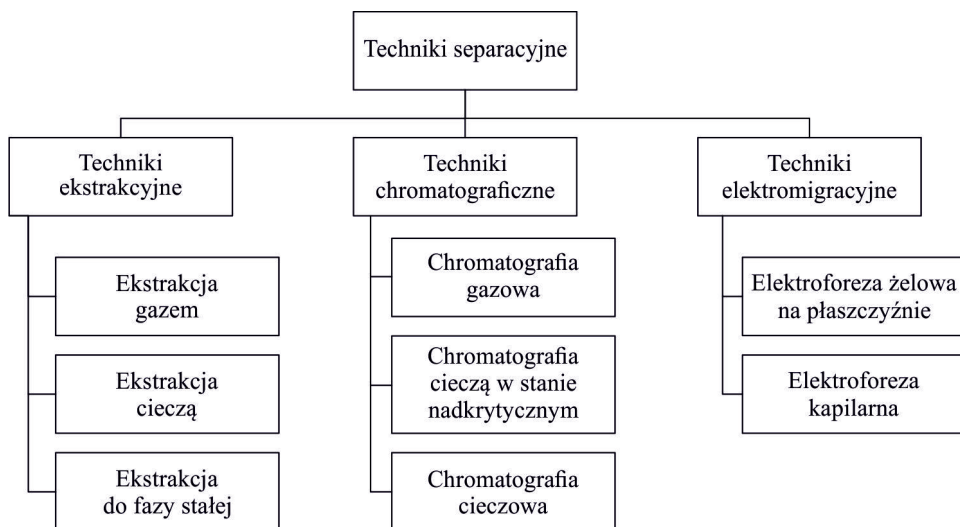
stopnia). Substancje biologicznie czynne pierwotne występują w każdej roślinie w postaci metabolitów i pełnią funkcje fizjologiczne (energetyczne, budulcowe lub zapasowe). Substancje biologicznie czynne wtórne mają charakter wyspecjalizowanej przemiany materii i nie można im przypisać podstawowej funkcji w życiu rośliny.

Głównym źródłem składników bioaktywnych są przede wszystkim produkty pochodzenia roślinnego, tylko niektóre pochodzą ze źródeł zwierzęcych. Na podstawie klasyfikacji struktury chemicznej wyróżnia się trzy podstawowe grupy substancji bioaktywnych:

- związki fenolowe (fenolokwasy, antocyjany, flawonoidy i inne),
- terpenoidy (monoterpeny, saponiny, karetonoidy, tokoferole i inne),
- niebiałkowe związki azotowe (alkaloidy, aminy, aminokwasy niebiałkowe, glikozydy i glikozynolany).

Substancje biologicznie czynne występują w materiale roślinnym w bardzo małych stężeniach. Podstawowym sposobem pozyskiwania substancji o cechach prozdrowotnych jest otrzymywanie roślinnych ekstraktów zawierających jeden lub kilka składników wyizolowanych po zadziałaniu odpowiednią techniką ekstrakcyjną. W związku z tym istotną rolę odgrywa prawidłowe przeprowadzenie procesu ekstrakcji przy zastosowaniu odpowiedniej techniki separacyjnej (rysunek 11).

Techniki ekstrakcyjne, chromatograficzne i elektromigracyjne są współcześnie stosowane w chemii analitycznej. Są one podstawą większości procesów



Rysunek 11. Podział technik separacyjnych

Źródło: Na podstawie (Stepnowski i in., 2010).

izolacji i identyfikacji związków chemicznych, wykorzystuje się je także do selektywnego rozdzielania substancji z mieszanin, przy jednoczesnym określeniu ich rodzaju i ilości.

Jedną z najczęściej wykorzystywanych technik izolacji określonych grup związków ze środowiska ich występowania jest ekstrakcja. Stosuje się ją w celu wyodrębniania poszczególnych substancji lub grup związków chemicznych przez rozpuszczanie ich w rozpuszczalniku i oddzielenie ich w postaci roztworu od pozostałych składników próbki. Proces ten pozwala na przeprowadzenie analizy do matrycy ciekłej przy użyciu odpowiedniej techniki ekstrakcji oraz zastosowaniu optymalnych warunków ekstrakcji. Dobór właściwej techniki przygotowania próbki jest niezwykle istotny. Dokonuje się go na podstawie takich czynników, jak czułość, wydajność, koszty, dostęp do odpowiedniej aparatury i urządzeń kontrolno-pomiarowych oraz możliwość ich wielokrotnego użycia, prostota, czas analizy, selektywność ekstrakcji, skład i stan skupienia próbki, ilość analitów w próbce oraz aspekty ekologiczne (Marcinkowski i in., 2015).

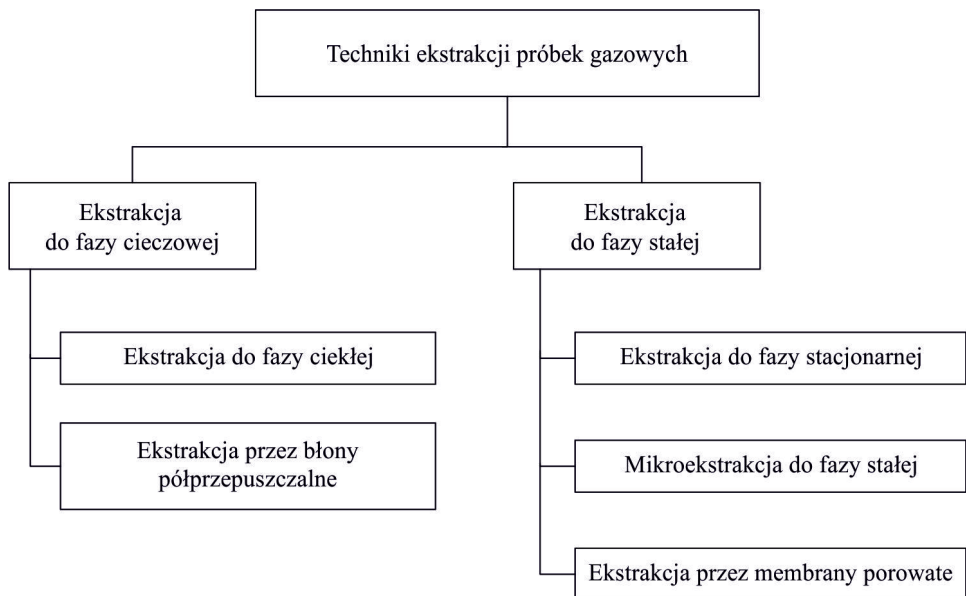
Podstawowy podział technik ekstrakcyjnych wynika z kryterium zastosowanych stanów skupienia próbki oraz ekstrahenta. W związku z tą klasyfikacją określono trzy techniki ekstrakcyjne:

- ekstrakcję próbek gazowych (ekstrakcję gaz–ciecz, ekstrakcję gaz–ciało stałe),
- ekstrakcję próbek ciekłych (ekstrakcję ciecz–gaz, ekstrakcję ciecz–ciecz, ekstrakcję ciecz–ciało stałe),
- ekstrakcję próbek stałych (ekstrakcję ciało stałe–gaz, ekstrakcję ciało stałe–ciecz).

Na rysunkach 12–14 przedstawiono podział dostępnych technik ekstrakcji stosowanych do próbek gazowych, ciekłych i stałych.

Kierunkiem rozwoju współczesnych technik ekstrakcyjnych są techniki ekologiczne tzw. zielone (Cheok i in., 2014). Wraz z rosnącymi kosztami energii i dążeniem do redukcji emisji gazów cieplarnianych branża przemysłu wytwarzające ekstrakty roślinne stoją przed wyzwaniem znalezienia optymalnych, nowoczesnych technologii ekstrakcji o zmniejszonym zużyciu energii, spełniających wymogi prawne dotyczące emisji, bezpieczeństwa i kontroli produktów oraz procesów zapewniających jednocześnie redukcję kosztów (Chemat i in., 2017). Podstawowymi zasadami zielonych technologii ekstrakcji są:

- ograniczenie zużycia odczynników chemicznych, zwłaszcza rozpuszczalników organicznych lub ich eliminacja,
- niestosowanie odczynników toksycznych dla człowieka i środowiska,
- ograniczenie emisji par i gazów, ścieków i odpadów stałych, powstających w wyniku procesu analitycznego,
- zmniejszenie nakładu pracy i zużycia energii.



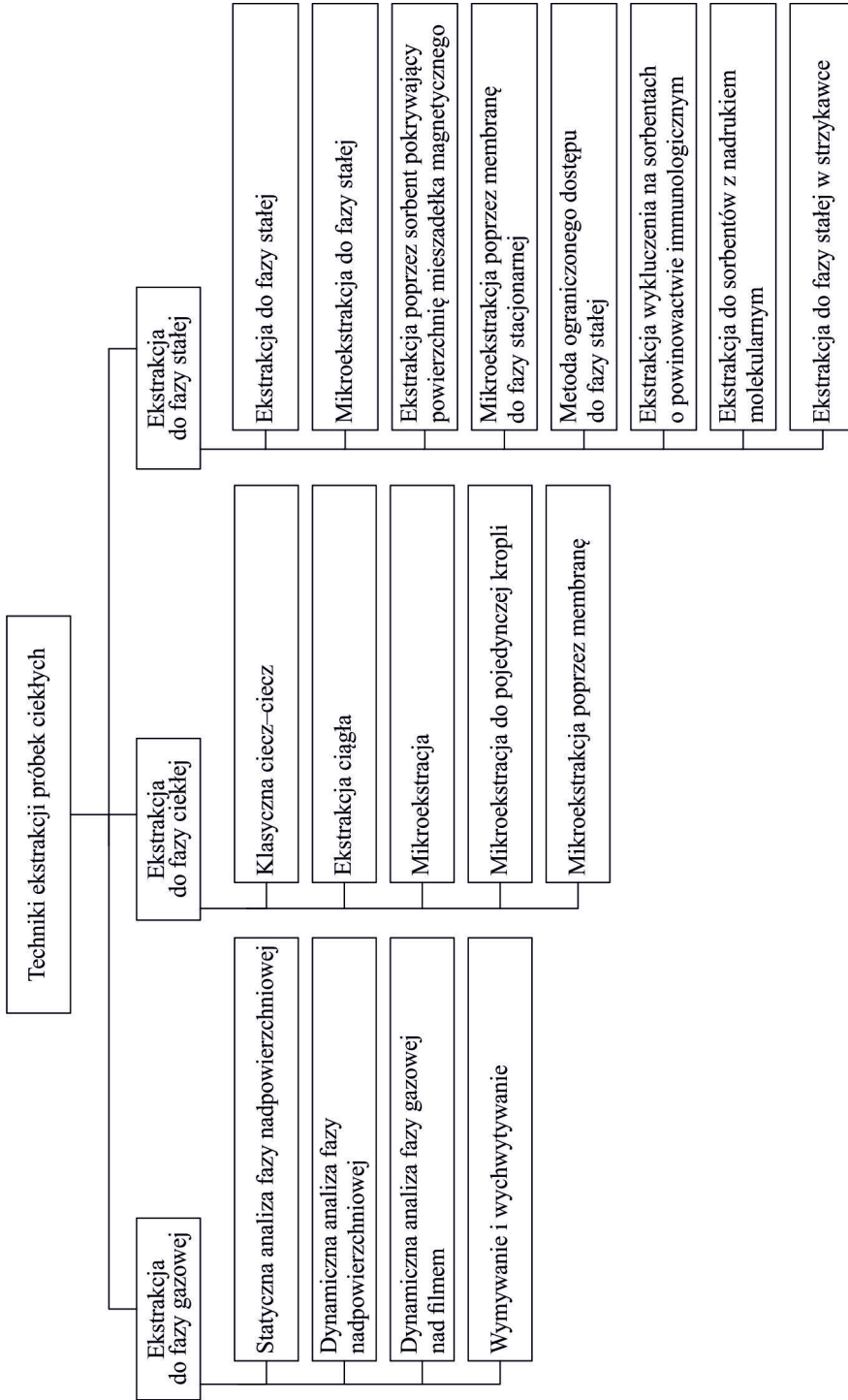
Rysunek 12. Podział technik ekstrakcji próbek gazowych

Źródło: Na podstawie (Stepnowski i in., 2010).

Analiza wpływu różnych czynników na efektywność ekstrakcji nieprzerwanie stanowi temat badań wielu naukowców (Cheng i Hong, 2018; Ilghami i in., 2015; Tomšik i in., 2016). Ocena tych czynników ma ogromne znaczenie w uzyskiwaniu pożądanej efektywności procesu. Należy jednak wziąć pod uwagę, że nie zawsze jest ona jedynym celem procesu ekstrakcji. Może być nim także osiągnięcie jak najniższego zużycia zasobów nieodnawialnych. Do czynników warunkujących efektywność ekstrakcji najczęściej zalicza się:

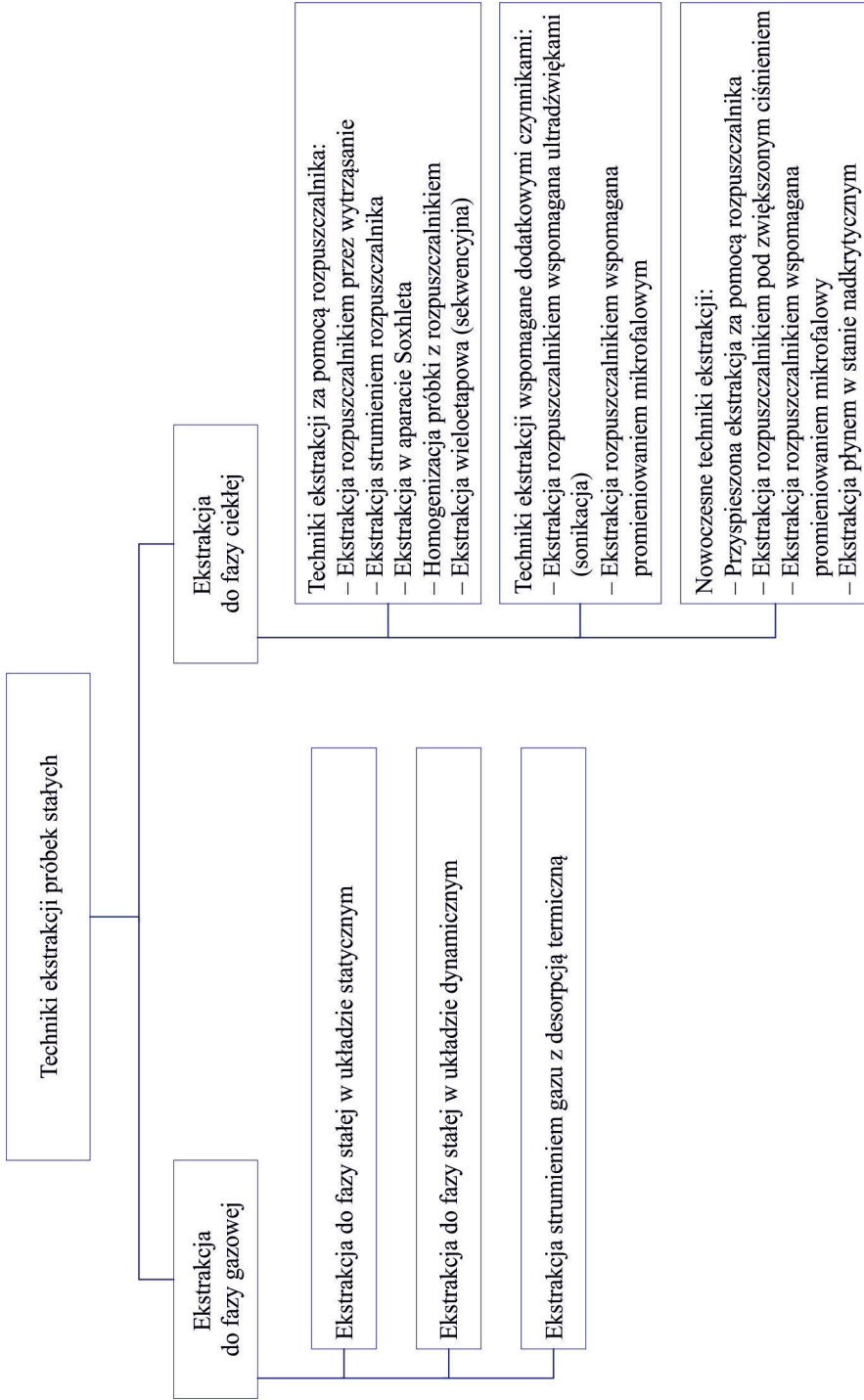
- odpowiedni dobór rodzaju ekstrahenta, uwzględniający budowę chemiczną i właściwości fizykochemiczne związku, który ma być izolowany,
- stężenie ekstrahenta,
- ilość rozpuszczalnika,
- temperaturę i czas trwania procesu,
- krotność ekstrakcji,
- wielkość cząstek próbki stałej (Azmir i in., 2013; Kukuła-Koch i in., 2011; Zhou i in., 2017).

Z uwagi na to, że odzysk substancji zależy w bardzo dużej mierze od rodzaju rozpuszczalnika, dobór ekstrahenta stanowi jeden z kluczowych etapów całego procesu. Trudnością we właściwym doborze ekstrahentów jest duża różnorodność występujących związków w surowcach roślinnych oraz odmienna



Rysunek 13. Podział technik ekstrakcji próbek ciekłych

Źródło: Na podstawie (Stepnowski i in., 2010).



Rysunek 14. Podział technik ekstrakcji próbek stałych

Źródło: Na podstawie (Stepnowski i in., 2010).

rozpuszczalność różnych grup związków. Opierając się na ogólnie istniejącej zasadzie rozpuszczalności „podobne rozpuszcza się w podobnym”, uważa się, że związki chemiczne posiadające kwaśny atom wodoru lub dużo grup hydroksylowych będą się łatwiej rozpuszczały w rozpuszczalnikach protonowych niż aprotonowych. Podobnie substancja, która posiada duży moment dipolowy, będzie lepiej rozpuszczalna w ekstrahentach polarnych niż apolarnych posiadających zerowy albo bardzo mały moment dipolowy (Kobus-Cisowska i in., 2015). W wyniku ekstrakcji rozpuszczalnikowej w ekstrakcie znajdują się zwykle takie substancje, jak cukry, kwasy organiczne, barwniki, garbniki i inne polifenole. Proporcje tych składników mogą się różnić w zależności od użytego rozpuszczalnika (Yu i in., 2005). Najczęściej stosuje się takie rozpuszczalniki ekstrahujące, jak etanol, metanol, aceton, heksan, octan etylu, woda, chloroform, eter naftowy lub toluen. Często wykorzystuje się również ich wodne mieszaniny bądź ekstrahuje się kolejno różnymi ekstrahentami, uwzględniając ich polarność, w celu uzyskania większej efektywności ekstrakcji.

Duży wpływ na jakość uzyskanego ekstraktu ma temperatura. Dobiera się ją na podstawie składu badanego materiału roślinnego, lotności ekstrahowanych analitów i ich powinowactwa do składników matrycy próbki. Dostępne dane literaturowe wskazują, że ogrzewanie próbki może zwiększyć skuteczność ekstrakcji, ponieważ wzrost temperatury zmniejsza lepkość rozpuszczalnika i zwiększa ruch molekularno-kinetyczny oraz współczynnik dyfuzji (Palma i in., 2013; Quenea i in., 2012). W doniesieniach literaturowych można odnaleźć także informacje o tym, że zbyt wysoka temperatura prowadzi do ekstrakcji niepożądanych zanieczyszczeń i rozkładu składników termolabilnych (Zhang i in., 2018). W ramach badań potwierdzono korzystny wpływ niskiej temperatury (poniżej 30°C) na jakość ekstrahowanych analitów (Esclapez i in., 2011; Zhang i in., 2009).

Efektywność ekstrakcji wzrasta wraz ze zwiększaniem jej krotności, a zadowalający poziom osiąga się, jeżeli ekstrakcja zostanie przeprowadzona trzykrotnie tym samym rozpuszczalnikiem i uzyskane przesącza zostaną połączone. Zawartość metabolitów będzie większa w ekstraktach po pierwszej ekstrakcji niż po drugiej i trzeciej. Wysoka efektywność pierwszej ekstrakcji wynika prawdopodobnie z niskiej proporcji materiału ekstrahowanego do rozpuszczalnika, co uniemożliwia powstanie roztworu przesyconego, a metabolity swobodnie mogą przechodzić do ekstraktu w czasie procesu ekstrakcji (Kobus-Cisowska i in., 2015).

Na efektywność procesu ekstrakcji analitów wpływ ma również wielkość cząstek próbki stałej. Zmniejszenie wielkości cząstek badanego materiału zwiększa kontakt powierzchniowy między próbką a zastosowanym rozpuszczalnikiem ekstrakcyjnym. Z kolei zbyt mały rozmiar cząstek może powodować nadmierną absorpcję substancji rozpuszczonej w stanie stałym i trudności w późniejszej

filtracji (Zhang i in., 2018). Według Azwanidy (2015) zastosowanie wielkości cząstek poniżej 0,5 mm jest najlepsze do osiągnięcia wydajnej ekstrakcji.

Do poprawienia wyników procesu ekstrakcji stosuje się ponadto różne dodatkowe oddziaływania fizyczne, w tym fale akustyczne o częstotliwości w zakresie 20–2000 kHz, zwane ultradźwiękami. Powszechnie wiadomo, że ultradźwięki mają znaczący wpływ na szybkość różnych procesów (Altaf i in., 2018). Proces ekstrakcji wspomaganey ultradźwiękami (tzw. sonikacji) przeprowadza się na dwa sposoby: za pomocą łaźni ultradźwiękowej lub za pomocą dezintegratora ultradźwiękowego. Różnica między tymi metodami polega na jednostkowej wprowadzanej mocy oraz na sposobie rozchodzenia się fali akustycznej. W łaźni ultradźwiękowej fala rozchodzi się w wodzie i dopiero z niej przechodzi do rozdrobionej próbki, pokonując przy tym barierę, którą stanowi ścianka naczynia. Zaletą ekstrakcji za pomocą łaźni ultradźwiękowej jest możliwość poddawania ekstrakcji wielu próbek jednocześnie. W dezintegratorze ultradźwiękowym fala jest natomiast emitowana bezpośrednio do próbki, przez co jego użycie jest bardziej efektywne.

Sonikację proponuje się jako metodę ekstrakcji przyjazną dla środowiska, odpowiednią do ekstrakcji na skalę laboratoryjną. Jednak można ją również przenieść na skalę pilotażową i przemysłową. Jak podają Chemat i in. (2017), przykładowo ekstrakcja 50 g nasion w 300 cm³ heksanu wymaga odpowiednio 6 kWh, by przeprowadzić macerację w temperaturze wrzenia rozpuszczalnika (mieszanie mechaniczne i ogrzewanie), 8 kWh w przypadku Soxhleta (ogrzewanie) i 0,25 kWh w ekstrakcji wspomaganey ultradźwiękami (zasilania ultradźwięków). Jeśli chodzi o wpływ na środowisko, obliczona ilość emisji ditlenku węgla do atmosfery jest wyższa w przypadku Soxhleta (6400 g CO₂/100 g ekstrahowanej substancji stałej) i maceracji (3600 g CO₂/100 g ekstrahowanej substancji stałej) niż w przypadku ekstrakcji wspomaganey ultradźwiękami (200 g CO₂/100 g ekstrahowanej substancji stałej) (Chemat i in., 2017).

Zainteresowanie naukowców procesem ekstrakcji i czynnikami, które wpływają na jego efektywność, jest wyrazem wysokiej świadomości w zakresie istotności wpływu tego etapu procedury na jakość otrzymywanych analitów. Znanym jest też wiele czynników mogących wpływać zarówno pozytywnie, jak i negatywnie na efektywność procesu ekstrakcji. Jednak odpowiednio dobrane parametry wyodrębniania substancji roślinnych powinny zagwarantować maksymalny odzysk cennych metabolitów w możliwie krótkim czasie, z lepszą jakością ekstrakcji i zachowanym bezpieczeństwem, przy niższych nakładach finansowych. Mimo że opracowano wiele nowych metod ekstrakcji, w których przeanalizowano wpływ różnych czynników na efektywność ekstrakcji, do tej pory żadna pojedyncza metoda nie jest uważana za standardową dla ekstrakcji związków bioaktywnych z roślin.

3.2. Metody projektowania procesu ekstrakcyjnego

W toku badań naukowych poświęconych związkom bioaktywnym uzyskiwanym z różnych roślin wielu naukowców wciąż koncentruje się na optymalizacji procesów ekstrakcji, ponieważ związki fenolowe cechują się labilnością i nierównomiernym rozmieszczeniem w roślinie, a ich ekstrakcja z materiału roślinnego wymaga odpowiedniego przygotowania (Cheng i Hong, 2018; Ilghami i in., 2015; Tomšik i in., 2016). Poszukiwanie optymalnych warunków ekstrakcji metodą jednowymiarową, w której modyfikowany jest tylko jeden czynnik, a wszystkie pozostałe są stałymi wartościami, jest bardzo czasochłonne i kosztowne. Ponadto istotną wadą takiego podejścia jest niemożność wykrycia potencjalnych interakcji w różnych warunkach. W tej sytuacji alternatywą dla standardowego podejścia jednowymiarowego jest zastosowanie metodologii wykorzystującej proces projektowania eksperymentu, która jest szczególnie przydatna, gdy na badane zjawisko mają wpływ co najmniej dwa czynniki (Granato i de Araujo Calado, 2014).

Termin „eksperyment” definiuje się jako systematyczną procedurę przeprowadzaną w kontrolowanych warunkach w celu odkrycia nieznanego efektu, przetestowania lub ustalenia hipotezy lub zilustrowania znanego efektu (Bochenryn i Kusz, 2014). Podczas analizy procesu często stosuje się eksperymenty, aby ocenić, które dane wejściowe procesu mają znaczący wpływ na wynik procesu i jaki powinien być docelowy poziom tych nakładów, aby osiągnąć pożądany rezultat (produkt wyjściowy).

Wdrożenie procedur planowania doświadczeń przed rozpoczęciem procesu produkcyjnego prowadzi także do istotnego polepszenia rezultatów procesu i ma wpływ na jego aspekt technologiczny oraz ekonomiczny. Projektowanie eksperymentalne (*design of experiments* – DOE) stosuje się, aby obniżyć jego koszty poprzez przyspieszenie procesu projektowania, zmniejszenie późniejszych zmian projektowych oraz zmniejszenie złożoności materiałowej i roboczej. Zaplanowane eksperymenty są również narzędziem do osiągnięcia oszczędności kosztów produkcji przez zminimalizowanie zmienności procesu i zmniejszenie liczby przeróbek, odpadów i potrzeby kontroli.

Metody planowania eksperymentu zostały stworzone w latach dwudziestych XX wieku przez Ronalda Fishera. Skuteczność tych metod sprawiła, że w późniejszych latach znalazły zastosowanie w biologii, medycynie, psychologii, jak również w statystycznej kontroli jakości. Planowanie eksperymentów jako jedno z narzędzi statystycznej kontroli jakości pozwala na określenie czynników najsilniej oddziałujących na zmienną charakteryzującą badany proces, a także umożliwia wskazanie wartości czynników, dla których zmienna wynikowa osiąga pożądaną wartość lub najmniejszą zmienność. W celu prawidłowego

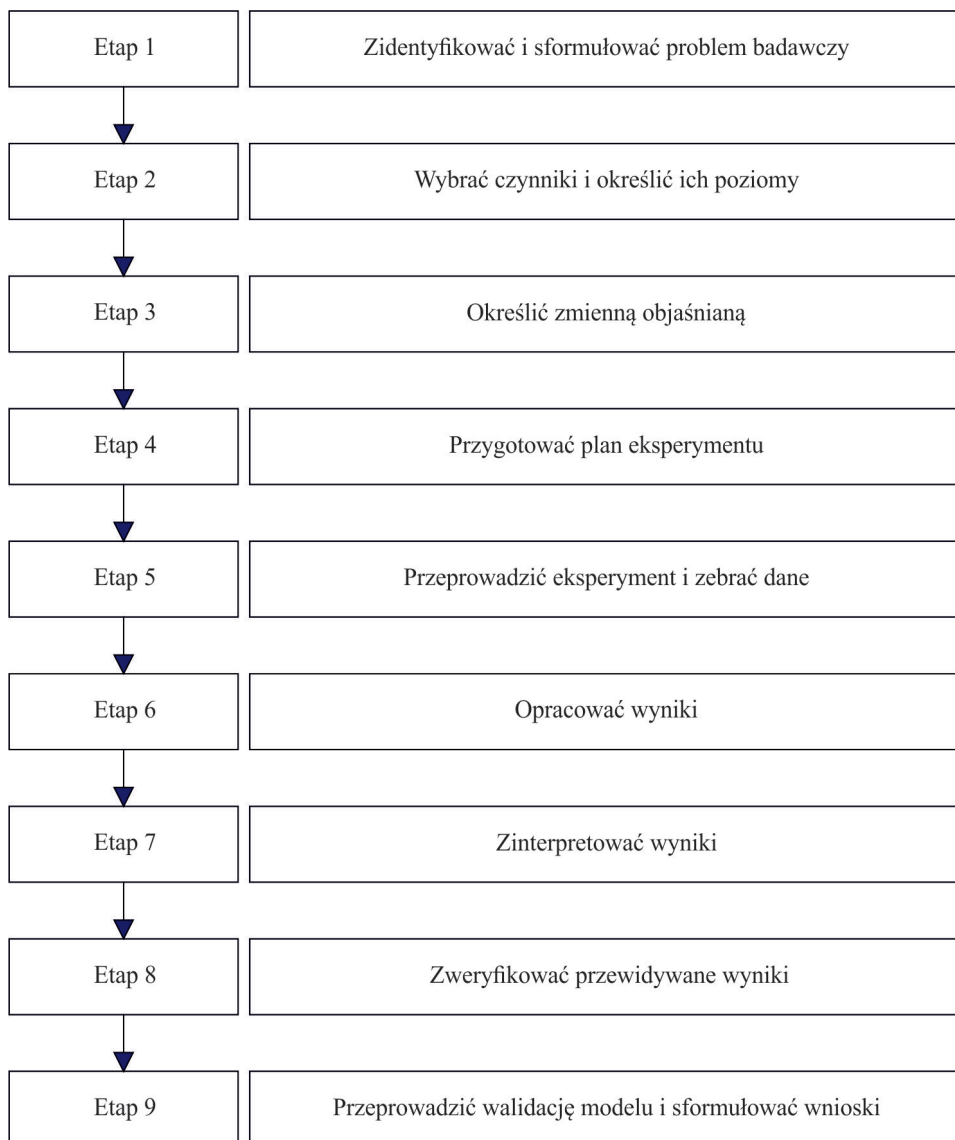
przeprowadzenia planowania doświadczeń należy między innymi szczegółowo sformułować problem, odpowiednio dobrać czynniki i zmienną charakteryzującą badany proces. Zasadniczym etapem eksperymentu jest jego realizacja oraz odpowiednia analiza otrzymanych wyników, na której podstawie formułowane są wnioski i zalecenia dla procesu (Montgomery, 1997). Proces projektowania eksperymentu przedstawiono na rysunku 15.

Do bieżącego monitorowania procesu produkcji znalazły zastosowanie takie metody projektowania eksperymentu, jak:

- plany frakcyjne $2(k-p)$,
- plany $2(k-p)$ maksymalnie niuwikłane i o najmniejszej aberracji,
- plany frakcyjne trójwartościowe $3(k-p)$, Boxa-Behnkena oraz dwu- i trójwartościowe,
- plany centralne kompozycyjne i wyznaczanie powierzchni odpowiedzi,
- plany kwadratów łacińskich,
- metody Taguchi,
- plany dla mieszanin i powierzchnie o podstawie trójkątnej,
- plany dla ograniczonych obszarów i mieszanin,
- plany D i A-optymalne (Statsoft, 2006).

Spośród wymienionych metod w projektowaniu procesu ekstrakcyjnego często są wykorzystywane centralne plany kompozycyjne połączone z metodą powierzchni odpowiedzi (*response surface methodology* – RSM). Metoda powierzchni odpowiedzi jest zbiorem technik matematycznych i statystycznych stosowanych w modelowaniu i analizowaniu sytuacji, w których badana odpowiedź podlega wielu zmiennym (Derrien i in., 2017). RSM pozwala na rozwiązywanie problemów optymalizacji przez wyznaczenie warunków prowadzenia procesu, przy których ich jakość będzie satysfakcjonująca. Definiuje wpływ zmiennych niezależnych, samych lub w połączeniu, na analizowane procesy (Ferreira i in., 2017).

W literaturze cytowane są przykłady stosowania tej metody w planowaniu doświadczeń, zarówno w procesie projektowania i doskonalenia jakości produktów żywnościowych, jak i w optymalizowaniu procesów ekstrakcji. Ilaiyaraja i in. (2015) przeprowadzili badania optymalizacji ekstrakcji polifenoli z jabłek. W tym celu dokonali oceny wpływu trzech parametrów ekstrakcji, tj. stężenia rozpuszczalnika, temperatury inkubacji i stosunku ciał stałych do cieczy, na odzyskiwanie związków bioaktywnych z owoców jabłoni z użyciem metody RSM. Wyniki ich badań sugerują, że opracowane przez nich optymalne warunki do produkcji polifenoli na dużą skalę mogą być wykorzystywane w przemyśle farmaceutycznym i spożywczym. Z kolei Belwal i in. (2016) przeanalizowali wpływ pięciu czynników, tj. czasu ekstrakcji, temperatury, stężenia metanolu, pH i proporcji próbki do rozpuszczalnika, na uzyskanie wysokiej zawartości



Rysunek 15. Etapy procesu projektowania eksperymentu

Źródło: Na podstawie (MoreSteam, b.d.).

związków polifenolowych i aktywności przeciwutleniającej owoców berberysu przy użyciu metody RSM. Wyniki badań wskazują, że na zmienne odpowiedzialności znacząco wpływały: temperatura ekstrakcji, stosunek próbki do rozpuszczalnika i stężenie rozpuszczalnika. Statystyczną metodę powierzchni odpowiedzi z planem Boxa Behnkena do optymalizacji uzyskanej efektywności

ekstrakcji luteiny i chlorofilu z produktów ubocznych szpinaku zastosowali Derrien i in. (2017). Autorzy otrzymali odzysk 96% chlorofilu i 70% luteiny w ścisłej zgodności z odpowiednio przewidywanymi wartościami, co potwierdza, że model był właściwy do optymalizacji wspólnych parametrów ekstrakcji zarówno dla luteiny, jak i chlorofilu. Ponadto naukowcy ci potwierdzili w badaniach, że na efektywność procesu odzyskania luteiny i chlorofilu miało wpływ głównie stężenie etanolu. Natomiast czas, temperatura i stosunek rozpuszczalnika do surowca nie miały znaczącego wpływu na efektywność procesu ekstrakcji tych związków (Derrien i in., 2017).

Problem planowania eksperymentu często jest bagatelizowany i pomijany, o czym może świadczyć nieliczna literatura przedmiotu. Projektowanie eksperymentu metodą powierzchni odpowiedzi należy do grupy metod, które umożliwiają stworzenie matematycznego modelu na podstawie danych otrzymanych z eksperymentu, bez potrzeby wykonywania wielu doświadczeń. Zastosowanie centralnych planów kompozycyjnych połączonych z metodą powierzchni odpowiedzi pozwala na obniżenie kosztów procesu ekstrakcji oraz czasu ekstrakcji przez wyeliminowanie nieistotnych czynników.





4. Badania własne

4.1. Cel monografii, hipotezy badawcze, zakres badań

Celem monografii była ocena przydatności zastosowania ekstraktu z wyłoków aronii w opracowaniu innowacyjnych biopolimerowych, chitozanowych osłonek o podwyższonych właściwościach użytkowych. Na podstawie analizy danych literaturowych oraz eksperymentalnych badań wstępnych sformułowano następujące hipotezy:

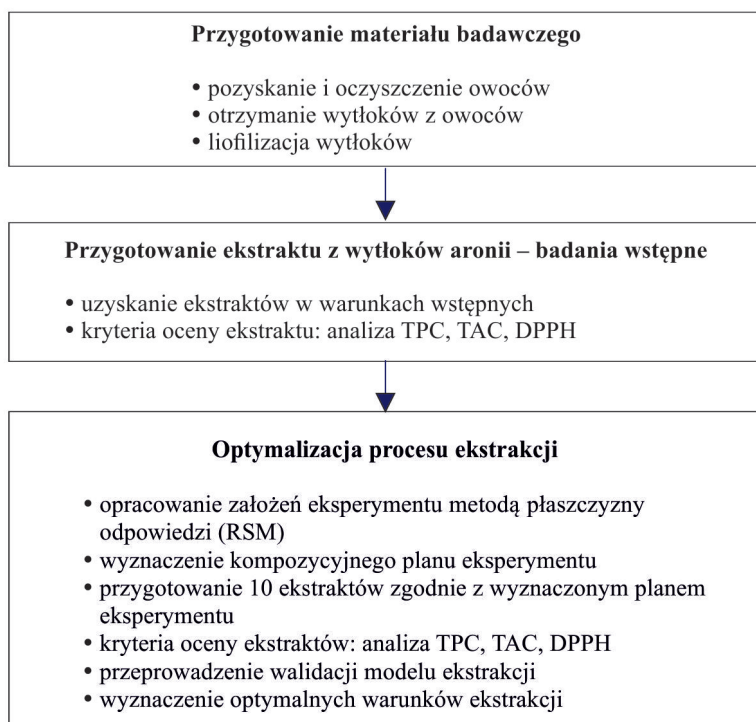
- H1.** Odpowiednie stężenie rozpuszczalnika w zakresie 60%–96% oraz czas sonikacji pomiędzy 10 a 30 minut w procesach ekstrakcji zapewni optymalną ekstrakcję związków biologicznie czynnych z wyłoków aronii.
- H2.** Rozdział frakcyjny substancji zawartych w ekstraktach z wyłoków aronii pozwoli na uzyskanie grupy związków o najwyższych właściwościach przeciwutleniających.
- H3.** Dodatek frakcji ekstraktu z wyłoków aronii na poziomie 0,5%–1,5% do chitozanowych osłonek pozwoli na uzyskanie innowacyjnych chitozanowych osłonek o podwyższonych właściwościach użytkowych.

Dla zrealizowania celu głównego opracowania i weryfikacji hipotez badawczych zaplanowano następujące zadania badawcze:

1. Uzyskanie wyłoków aronii w procesie tłoczenia soku na zimno w warunkach laboratoryjnych.
2. Wstępna ocena właściwości przeciwutleniających uzyskanych ekstraktów z wyłoków aronii.
3. Optymalizacja procesu ekstrakcji na podstawie zastosowanego planowania doświadczeń metodą powierzchni odpowiedzi (RSM).
4. Rozdział ekstraktów na frakcje i ocena ich właściwości przeciwutleniających.
5. Wstępna analiza jakościowa poszczególnych frakcji z wykorzystaniem wysokosprawnej chromatografii cieczowej połączonej z spektrometrem mas z analizatorem typu pułapka jonowa (HPLC-ESI-IT-MS) i ultrasprawnej chroma-

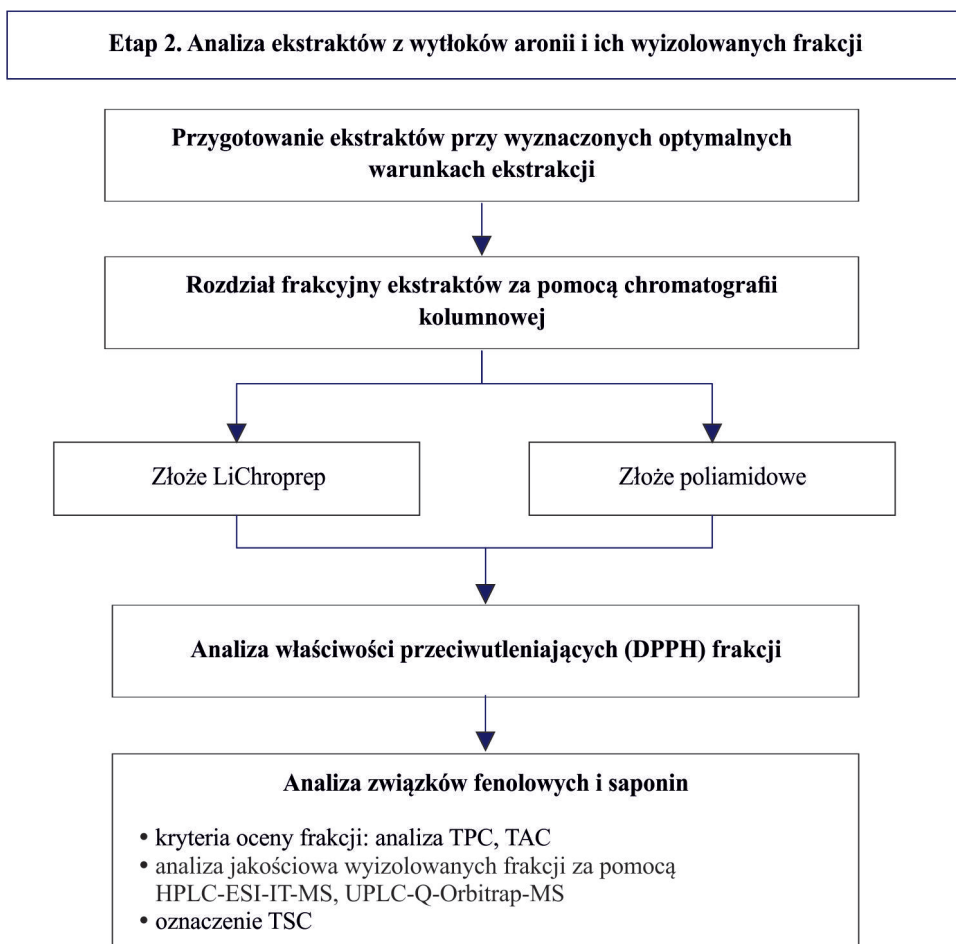
- tografii cieczowej połączonej z wysokorozdzielczym spektrometrem mas z analizatorem typu Orbitrap (UPLC-Q-Orbitrap-MS).
6. Opracowanie eksperymentalnej koncepcji innowacyjnej chitozanej osłonki z dodatkiem i bez dodatku ekstraktu z wyłoków aronii.
 7. Ocena technicznych koncepcji osłonek z różną zawartością ekstraktu i bez ekstraktu z wyłoków aronii pod kątem właściwości użytkowych.
 8. Oszacowanie bezpośrednich kosztów wytworzenia opracowanego prototypu osłonki przy użyciu metody inżynierskiej.
 9. Ocena postrzegania i perspektyw rozwoju innowacyjnych osłonek jadalnych wśród przedsiębiorstw związanych z branżą opakowaniową i przemysłem owocowo-warzywnym, tj. producentami folii i osłonek oraz producentami i przetwórcami owoców i warzyw.

Etap 1. Przygotowanie ekstraktu z wyłoków aronii i optymalizacja procesu ekstrakcji



Rysunek 16. Przygotowanie ekstraktów z wyłoków aronii i optymalizacja procesu ekstrakcji

Źródło: Opracowanie własne.



Rysunek 17. Analiza wyizolowanych frakcji ekstraktów z wytlóków aronii

Źródło: Opracowanie własne.

Zakres badań podjętych do realizacji celu monografii został podzielony na cztery zasadnicze etapy.

Pierwszy etap prac obejmował przygotowanie ekstraktów z wytlóków aronii i optymalizację procesu ekstrakcji (rysunek 16). W tym celu pozyskano i przygotowano materiał badawczy – wytloki z dwóch odmian aronii czarnoowocowej. Otrzymane wytloki poddano procesowi liofilizacji. Następnie z uzyskanych liofilizatów przygotowano ekstrakty do wstępnej analizy związków fenolowych i właściwości przeciwutleniających, na podstawie której do dalszych badań wybrano jedną odmianę aronii. Na kolejnym etapie badań zoptymalizowano proces ekstrakcji, wykorzystując teorię planowania doświadczeń metodą płaszczyzny odpowiedzi RSM.

Etap 3. Opracowanie i techniczne testowanie koncepcji eksperymentalnych osłonek jadalnych

Opracowanie koncepcji eksperymentalnych osłonek jadalnych

Techniczne testowanie koncepcji eksperymentalnych osłonek jadalnych

Zakres:

- instrumentalny pomiar barwy ($L^*a^*b^*$, $L^*C^*h^\circ$),
- transmisja optyczna (T)
- rozpuszczalność w wodzie (WS)
- szybkość przenikania pary wodnej (WVTR) i przepuszczalność pary wodnej (WVP)
- przepuszczalność tlenu (OTR)
- analiza struktury za pomocą spektroskopii w podczerwieni z transformacją Fouriera (FTIR)
- skaningowa mikroskopia elektronowa (SEM)
- właściwości przeciwutleniające (DPPH, ABTS)

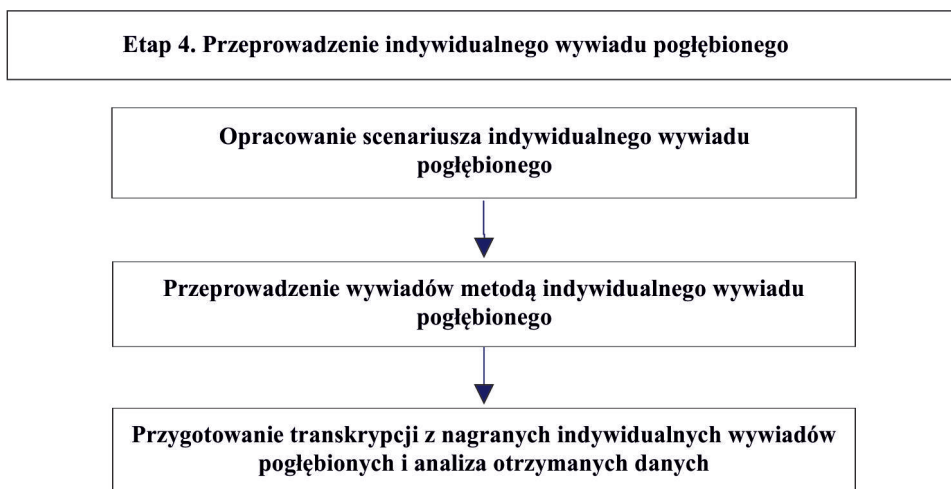
Oszacowanie bezpośrednich kosztów wytworzenia eksperymentalnych osłonek jadalnych

Rysunek 18. Opracowanie i techniczne testowanie koncepcji eksperymentalnych jadalnych osłonek z dodatkiem ekstraktu z wyłoków aronii i bez niego

Źródło: Opracowanie własne.

Na drugim etapie przeprowadzono rozdział frakcyjny ekstraktów z wyłoków aronii (rysunek 17). Etap ten miał na celu uzyskanie frakcji ekstraktu o wysokiej koncentracji związków biologicznie czynnych o właściwościach przeciwutleniających. Przygotowano ekstrakty w wyznaczonych optymalnych warunkach ekstrakcji, które następnie rozdzielono na frakcje za pomocą chromatografii kolumnowej na dwóch złożach. Otrzymane frakcje poddano wstępnej analizie jakościowej, analizie właściwości przeciwutleniających oraz analizie na ogólną zawartość związków fenolowych i saponin.

Trzeci etap polegał na opracowaniu i technicznym testowaniu koncepcji eksperymentalnych jadalnych osłonek bez dodatku i z dodatkiem ekstraktu z wyłoków aronii (rysunek 18). W pierwszej części tego etapu opracowano koncepcję eksperymentalnych osłonek jadalnych. Następnie przeprowadzono techniczne testowanie koncepcji eksperymentalnych osłonek jadalnych. Trzeci etap badań zakończono oszacowaniem bezpośrednich kosztów wytworzenia eksperymentalnych osłonek jadalnych.



Rysunek 19. Przeprowadzenie indywidualnego wywiadu pogłębionego wśród przedsiębiorców

Źródło: Opracowanie własne.

Na czwartym etapie badań przeprowadzono indywidualne wywiady pogłębione wśród wybranych przedsiębiorców (rysunek 19). W tym celu opracowano scenariusz, przeprowadzono wywiady i transkrypcje z nagrań. W ostatniej części przeprowadzono analizę zebranych informacji.

4.2. Materiał badawczy, odczynniki i aparatura laboratoryjna

Materiał do badań stanowiły wycinki uzyskane jako pozostałość po procesie tłoczenia soku w warunkach laboratoryjnych z owoców aronii czarnoowocowej: Nero i Galicjanka. Owoce aronii zebrano w gospodarstwie ogrodniczym w Marwicach, w województwie lubuskim. Surowiec pochodził ze zbioru w 2017 roku. Owoce pozyskano we wrześniu w fazie pełnej dojrzałości zbiorczej. Zdjęcia owoców zaprezentowano na rysunku 20.

W badaniach zastosowano następujące odczynniki:

- ABTS (2,2'-azynobis-3-etylobenzotiazolino-6-sulfonian diamonowy), Roche,
- acetonitryl (HPLC Gradient Grade), Sigma-Aldrich,
- alkohol etylowy 96%, czda, POCH,
- alkohol metylowy (HPLC Gradient Grade), Sigma-Aldrich,
- chitozan (300–1000 cps), o średniej masie cząsteczkowej, Pol-Aura,
- diosgenina, SCTB,
- DPPH (2,2-difenylo-1-pikrylohydrazyl), Sigma-Aldrich,



Rysunek 20. Owoce aronii czarnoowocowej (*Aronia melanocarpa* E.): (A) Nero i (B) Galicjanka

Źródło: Fotografie własne.

- gliceryna roślinna 99,7%, P.P.H. Stanlab s.j.,
- kwas galusowy, Sigma-Aldrich,
- kwas mrówkowy, Sigma-Aldrich,
- kwas siarkowy(VI) 96%, czda, PureLand,
- LiChroprep RP-18 (40-63 μm), Merck KGaA,
- nadsiarczan potasu, czda, Chempur,
- octan sodu bezwodny, czda, Chempur,
- odczynnik Folin-Ciocalteu, Fluka, Sigma-Aldrich,
- poliamid-6, Sigma-Aldrich,
- troloks(kwas 6-hydroksy-2,3,7,8-tetrametylochromano-2-karboksylowy), Sigma-Aldrich,
- wanilina, Sigma-Aldrich,
- węglan sodu bezwodny czda, Chempur.

Badania zostały przeprowadzone z wykorzystaniem następującego sprzętu i aparatury laboratoryjnej:

- dezintegrator ultradźwiękowy typu Sonisc vibro cel,
- liofilizator TG-15,
- łaźnia ultradźwiękowa Sonic-3,
- mieszadło magnetyczne MR HEI-MIX S,
- mikroskop OLYMPUS CX43,
- młynek KN 295 Knifetec™,
- pompa próżniowa membranowa,
- skaningowy mikroskop elektronowy (SEM) Zeiss Supra 35,
- spektrofotometr do FTIR Perkin Elmer Spectrum 100,
- spektrofotometr Jasco V-770,

- suszarka laboratoryjna UN/UF z konwekcją naturalną/wymuszoną,
- ultrasprawy chromatograf cieczowy Acquity, Waters połączony z wysokorozdzielczym spektrometrem mas z analizatorem typu Orbitrap (UPLC-Q-Orbitrap-MS),
- wagi analityczne oraz wagi precyzyjne,
- wirówka laboratoryjna MPW-260R,
- wyciskarka wolnoobrotowa Sana EUJ-707,
- wyparka rotacyjna Rotavapor® R-300,
- wysokosprawy chromatograf cieczowy Agilent 1100, wyposażony w spektrometr masowy Esquire 3000 (HPLC-ESI-IT-MS).

4.3. Metodyka badawcza

4.3.1. Przygotowanie ekstraktów z wyłoków aronii i optymalizacja procesu ekstrakcji

Przygotowanie ekstraktów z wyłoków aronii i optymalizacja procesu ekstrakcji obejmowało następujące zakresy badań:

- przygotowanie materiału badawczego,
- przygotowanie ekstraktów z wyłoków aronii – badania wstępne,
- optymalizację procesu ekstrakcji wyłoków.

Przygotowanie materiału badawczego

Przygotowanie materiału badawczego polegało na wykonaniu następujących czynności:

- pozyskanie i oczyszczeniu owoców,
- otrzymanie wyłoków z owoców,
- liofilizacja wyłoków.

Pozyskanie i oczyszczenie owoców

Owoce aronii zebrano w gospodarstwie ogrodniczym w Marwicach. Na pierwszym etapie owoce każdej z odmian aronii były oczyszczane i sortowane (między innymi usunięcie owoców zepsutych, uszkodzonych), a następnie myte z wykorzystaniem wyłącznie wody wodociągowej. Przygotowane owoce aronii poddano ocenie wybranych cech morfologicznych. Ocena morfologiczna została przeprowadzona dla każdej z odmian aronii, na stu losowo wybranych jagodach

i polegała na pomiarze parametrów, takich jak masa, przekrój poprzeczny i podłużny jagody oraz wybarwienie miąższu.

Otrzymanie wyłoków z owoców

Wyłoki owoców aronii uzyskano po przeprowadzonym procesie tłoczenia na zimno w warunkach laboratoryjnych. Każdorazowo 18 kg owoców obu odmian aronii poddano procesowi tłoczenia z prędkością 75 obr./min w czasie 3 godzin przy użyciu wyciskarki wolnoobrotowej Sana EUJ-707 firmy Omega. Otrzymane wyłoki zważono i zamrożono w temperaturze -18°C , a następnie poddano procesowi liofilizacji.

Liofilizacja wyłoków

Proces suszenia prowadzono w liofilizatorze TG-15 przez 16 godzin i 15 minut zgodnie z granicznymi parametrami temperatury półek grzewczych, surowca i wymrażacza oraz próżni zaprezentowanymi w tabeli 5.

Tabela 5. Graniczne parametry temperatur i próżni zastosowanych w procesie liofilizacji wyłoków aronii

Temperatura półek grzewczych ($^{\circ}\text{C}$)	Temperatura surowca ($^{\circ}\text{C}$)	Temperatura wymrażacza ($^{\circ}\text{C}$)	Ciśnienie (Pa)
60	35	-47	~50
54	42	-45	~50
47	47	-44	~50

Źródło: Opracowanie własne.

Liofilizacja wyłoków aronii została przeprowadzona w firmie Naturtim we Włocławku. Po zliofilizowaniu materiał roślinny został zmielony za pomocą młynka KN 295 Knifotec™. Następnie wielkość zmielonych cząstek zmierzono przy użyciu mikroskopu fluorescencyjnego OLYMPUS CX43. Do czasu przeprowadzenia analiz proszki z liofilizatorów wyłoków przechowywano w opakowaniach barierowych typu doypack, wykonanych z laminatów wielowarstwowych ograniczających dostęp do światła i powietrza w temperaturze pokojowej.

Przygotowanie ekstraktów z wyłoków aronii – badania wstępne

Przygotowanie ekstraktów z wyłoków aronii i przeprowadzenie badań wstępnych obejmowało następujące czynności:

- uzyskanie ekstraktów w warunkach wstępnych,
- oznaczenie ogólnej zawartości związków fenolowych (TPC),
- oznaczenie ogólnej zawartości antocyjanów (TAC),
- analizę właściwości przeciwutleniających (DPPH).

Uzyskanie ekstraktów w warunkach wstępnych

Zliofilizowane wyłoki aronii (2,5 g) poddano trzykrotnej ekstrakcji ($3 \cdot 30$ minut), stosując 25 cm^3 80-procentowego roztworu alkoholu etylowego. Ekstrakcję przeprowadzono w łaźni ultradźwiękowej Sonic-3. Stałymi parametrami procesu ekstrakcji były: temperatura (25°C), amplituda fali dźwiękowej ($50 \mu\text{m}$) oraz stosunek masy surowca do ilości rozpuszczalnika (1 : 10). Otrzymane ekstrakty przesączano na lejku Büchnera, a następnie łączono i zagęszczano pod zmniejszonym ciśnieniem. Zateżone ekstrakty przeniesiono do kolb miarowych o pojemności 25 cm^3 i uzupełniono 80-procentowym alkoholem etylowym. Przygotowane ekstrakty przechowywano w temperaturze -20°C do czasu wykonania poszczególnych analiz. W uzyskanych ekstraktach oznaczono ogólną zawartość związków fenolowych (TPC) i ogólną zawartość antocyjanów (TAC) oraz zbadano właściwości przeciwutleniające za pomocą testu z rodnikiem DPPH.

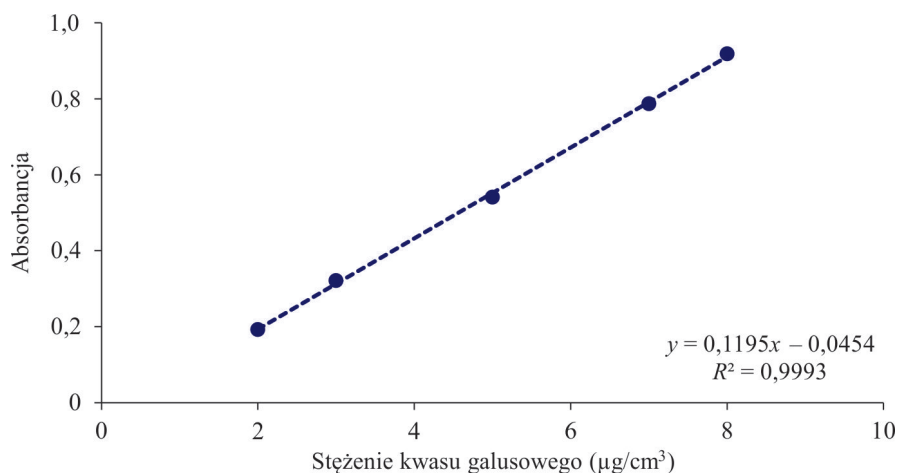
Oznaczenie ogólnej zawartości związków fenolowych (TPC)

Ogólną zawartość związków fenolowych zmierzono przy użyciu metody kolorymetrycznej (Singleton i Rossi, 1965), stosując kwas galusowy (GAE) jako wzorzec. Do kolb miarowych o pojemności 10 cm^3 pobrano kolejno: 5 cm^3 wody destylowanej, $0,5 \text{ cm}^3$ odczynnika Folina-Ciocalteu oraz $0,1 \text{ cm}^3$ ekstraktu. Po 3 minutach inkubacji w temperaturze pokojowej do kolb dodano $1,5 \text{ cm}^3$ 20-procentowego roztworu węgla sodu i uzupełniono wodą destylowaną do kreski. Po upływie 2 godzin wykonano pomiar absorbancji przy długości fali 725 nm. Zastosowany odnośnik wykonano analogicznie, dodając zamiast ekstraktu wodę destylowaną. Zawartość związków fenolowych w ekstraktach wyznaczono na podstawie krzywej wzorcowej (rysunek 21), a wyniki wyrażono w mg GAE/g s.m. ekstraktu.

Oznaczenie ogólnej zawartości antocyjanów (TAC)

Ogólną zawartość antocyjanów (TAC) oznaczono zgodnie z metodą Sanchez-Moreno i in. (2003). Analiza polegała na pomiarze absorbancji przy dwóch długościach fal: 510 nm i 700 nm. Przygotowując próbkę do oznaczenia pobrano do dwóch kuwet: $2,7 \text{ cm}^3$ buforu o $\text{pH} = 1,0$ i $0,3 \text{ cm}^3$ próbki oraz $2,7 \text{ cm}^3$ buforu o $\text{pH} = 4,5$ i $0,3 \text{ cm}^3$ próbki. Zastosowany odnośnik wykonano analogicznie, dodając zamiast ekstraktu wodę destylowaną. Na podstawie otrzymanych wyników obliczono różnicę absorbancji przy $\text{pH} = 1,0$ i $\text{pH} = 4,5$ według przedstawionego poniżej wzoru:

$$A = (A_{510} - A_{700}) \cdot \text{pH}1,0 - (A_{510} - A_{700}) \cdot \text{pH}4,5$$



Rysunek 21. Krzywa wzorcowa do oznaczenia ogólnej zawartości związków fenolowych

Źródło: Opracowanie własne.

Stężenie antocyjanów obliczono według wzoru:

$$TAC = \frac{A \cdot MW \cdot DF \cdot 100}{MA}$$

gdzie:

TAC – całkowita zawartość antocyjanów,

A – absorbancja,

MW – masa cząsteczkowa 3-glukozydu cyjanidyny (449,2 g/mol),

DF – współczynnik rozcieńczenia,

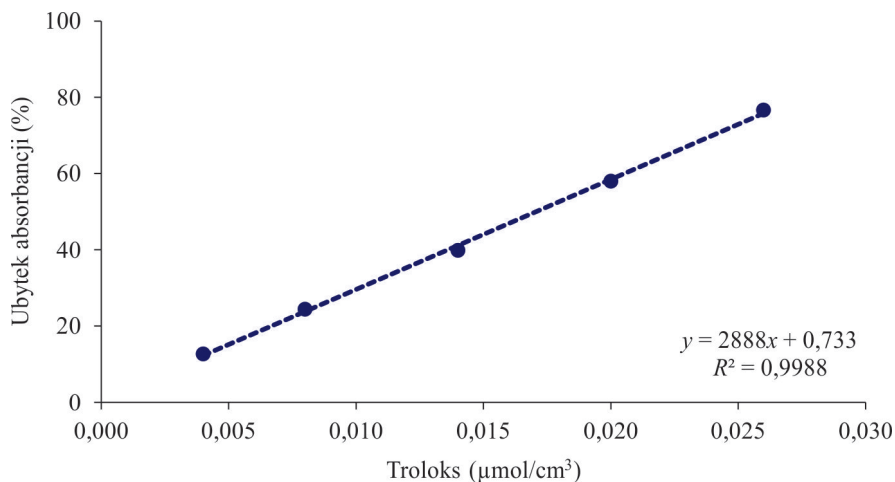
MA – molowy współczynnik absorpcji 3-glukozydu cyjanidyny (26 900 dm³mol⁻¹ cm⁻¹).

Ogólną zawartość antocyjanów wyrażono w przeliczeniu na mg 3-glukozydu cyjanidyny (C3GE)/g s.m. ekstraktu.

Analiza właściwości przeciwutleniających (DPPH)

Właściwości przeciwutleniające określono za pomocą testu z rodnikiem DPPH. Badanie aktywności przeciwrodnikowej próbek przeprowadzono zgodnie z metodyką Sanchez-Moreno i in. (1998), z modyfikacją polegającą na ustaleniu częstotliwości pomiarów i zakresu stężeń dodatku ekstraktów w badanym układzie oraz użyciu etanolowego roztworu rodnika DPPH. Do kolbki miarowej odważono 0,0025 g DPPH i rozpuszczono w 100 cm³ 96-procentowego alkoholu etylowego. Do analizy pobrano 2,4 cm³ roztworu rodnika i 0,1 cm³ próbki. Absorbancję

mieszaniny mierzono przez 10 minut przy długości fali 515 nm. W procedurze analitycznej zastosowano odnośnik, który wykonano analogicznie, dodając zamiast próbki ekstraktu wodę destylowaną. Obliczono redukcję rodnika DPPH po 10 minutach inkubacji próbki. Równoległe przygotowano krzywą wzorcową procentowego ubytku absorbancji od stężenia troloksu (rysunek 22). Wyniki wyrażono w przeliczeniu na mmol troloksu/100 g s.m. ekstraktu.



Rysunek 22. Krzywa wzorcową do oznaczenia właściwości przeciwrodnikowych

Źródło: Opracowanie własne.

Optymalizacja procesu ekstrakcji wyłoków

Opracowanie metodyczne niniejszego podrozdziału obejmuje fragment publikacji Sady i in. (2019). Opracowanie tego fragmentu stanowiło podstawę do realizacji badań związanych z otrzymywaniem ekstraktu o wysokich właściwościach przeciwutleniających.

W celu optymalizacji procesu ekstrakcji związków biologicznie czynnych o cechach prozdrowotnych z wyłoków aronii wykonano następujące badania:

- opracowanie założeń eksperymentu metodą płaszczyzny odpowiedzi RSM,
- wyznaczenie kompozycyjnego planu eksperymentu,
- przygotowanie 10 ekstraktów zgodnie z wyznaczonym planem eksperymentu,
- analizę ekstraktów po kątem kryteriów: TPC, TAC, DPPH,
- przeprowadzenie walidacji modelu ekstrakcji,
- wyznaczenie optymalnych warunków ekstrakcji.

Opracowanie założeń eksperymentu metodą płaszczyzny odpowiedzi RSM

W celu opracowania założeń eksperymentu polegającego na optymalizacji warunków ekstrakcji wykorzystano metodę płaszczyzny odpowiedzi (RSM). Analizę RSM zastosowano do określenia wpływu dwóch zmiennych niezależnych: X_1 – stężenie alkoholu etylowego (%) oraz X_2 – czas sonikacji (min) na zawartość TPC, TAC i DPPH, które stanowiły funkcje odpowiedzi dla tych czynników. Dobór czynników oraz ich zakresy do doświadczenia wybrano na podstawie analizy literatury naukowej (Jeszka-Skowron i in., 2014; Y. Liu i in., 2018). Do oszacowania precyzji odpowiedzi powierzchniowych określono wartość alfa (α), gdzie ramię gwiazdne alfa (α) w modelu kompozycyjnym planu eksperymentalnego to $\pm\alpha$. Wartość alfa (α) obliczono za pomocą następującego równania:

$$\alpha = \left(2^k\right)^{\frac{1}{4}}$$

gdzie:

k – liczba czynników.

Do wyznaczenia rzeczywistej wartości alfa (α) użyto następującego równania:

$$\text{Rzeczywista wartość} \pm\alpha \text{ (Wartość zakodowana} \cdot L) + C$$

gdzie:

L – długość promienia,

C – wartość zmiennej w punkcie centralnym.

Zależność między zakodowanymi wartościami a rzeczywistymi wartościami wykorzystanymi do analizy statystycznej przedstawiono w tabeli 6.

Tabela 6. Zmienne niezależne oraz ich zakodowane i rzeczywiste wartości

Czynnik	Jednostka	Zakodowane poziomy czynników				
		$-\alpha^*$	-1	0	1	$+\alpha^*$
Stężenie etanolu, X_1	%	60,02	65	78	90	94,97
		(60)**				(96)**
Czas sonikacji, X_2	min	10,10	13	20	27	29,90
		(10)**				(30)**

Objaśnienia: * Wartość alfa dla $k = 2$: $\alpha = \left(2^k\right)^{\frac{1}{4}} = \left(2^2\right)^{\frac{1}{4}} = 2^{\frac{1}{2}} = 1,414$; ** kompozycyjny plan eksperymentu opracowano na podstawie rzeczywistych wartości zaokrąglonych do jedności.

Źródło: Opracowanie własne.

Wyznaczenie kompozycyjnego planu eksperymentu

Na podstawie danych zaprezentowanych w tabeli 6 przy użyciu programu statystycznego Statistica 13.1 (StatSoft) wyznaczono plan kompozycyjny, który obejmował 10 doświadczeń i uwzględnił dwa powtórzenia dla punktu centralnego (C). Zakres stężenia alkoholu etylowego w wodzie (X_1) i czas sonikacji (X_2) przyjęte w eksperymencie przedstawiono w tabeli 7.

Tabela 7. Stężenia alkoholu etylowego (X_1) i czas sonikacji (X_2) przyjęty w planie kompozycyjnym eksperymentu optymalizacji ekstrakcji

Kolejność doświadczeń nierandomizowana	Kolejność doświadczeń randomizowana	X_1	X_2
1	5	60	20
2	10 (C)	78	20
3	9 (C)	78	20
4	2	65	27
5	7	78	10
6	1	65	13
7	6	96	20
8	4	90	27
9	8	78	30
10	3	90	13

Źródło: Opracowanie własne.

Przygotowanie 10 ekstraktów zgodnie z wyznaczonym planem eksperymentu

Do kolby pobrano 5 g wyłoków, a następnie trzykrotnie ekstrahowano, stosując 50 cm³ rozpuszczalnika. Stałymi parametrami procesu ekstrakcji we wszystkich eksperymentach były: temperatura (25°C), amplituda fali dźwiękowej (50 μm) oraz stosunek masy surowca do ilości rozpuszczalnika (1 : 10). Po określonym czasie ekstrakty przesączono przez zestaw do filtracji ze spiekane-go szkła i zalewano świeżą porcją rozpuszczalnika. Uzyskane filtryaty połączo-no i odparowano do sucha przy użyciu wyparki obrotowej w temperaturze 30°C, chroniąc próbkę przed światłem. Ekstrakty rozpuszczono w 60-procentowym alkoholu etylowym i przeniesiono do kolb miarowych o pojemności 25 cm³. Przygotowane ekstrakty przechowywano w temperaturze -20°C do czasu anali-zy. Proces ekstrakcji wspomagano ultradźwiękami. Do nadźwiękowania próbek użyto dezintegratora ultradźwiękowego typu Sonics vibro cell o częstotliwo-ści 40 kHz. Podczas nadźwiękowania próbek monitorowano wielkość wnie-sionej energii do próbki oraz obliczono pochodne wielkości energetyczne pola

ultradźwiękowego, tj. wartość mocy akustycznej (N), natężenie fali ultradźwiękowej (I), gęstości energii (W_e) oraz gęstości mocy (W_m) według wzorów przedstawionych w tabeli 8.

Tabela 8. Wielkości energetyczne pola ultradźwiękowego

Parametr	Wzór	Jednostka
Moc akustyczna, N	$N = \frac{E_s}{t_s}$	W
Natężenie fali akustycznej, I	$I = \frac{N}{S}$	$\frac{W}{\text{cm}^2}$
Gęstość energii, W_e	$W_e = \frac{E_s}{V}$	$\frac{J}{\text{dm}^3}$
Gęstość mocy, W_m	$W_m = \frac{N}{V}$	$\frac{W}{\text{dm}^3}$

Objaśnienia: N – moc akustyczna (W), E_s – energia pola akustycznego (J), S – pole powierzchni, przez którą przechodzi fala (cm^2), t_s – czas sonikacji (s), V – objętość próbki (dm^3).

Źródło: Opracowanie własne.

Analiza ekstraktów w zakresie: TPC, TAC, DPPH

W uzyskanych ekstraktach, podobnie jak w przypadku badań wstępnych, każdorazowo oznaczono:

- ogólną zawartość związków fenolowych (TPC),
- ogólną zawartość antocyjanów (TAC),

oraz zbadano właściwości przeciwutleniające za pomocą testu z rodnikiem DPPH (szczegółowe metodyki badawcze wymienionych oznaczeń zostały opisane w podrozdziale „Przygotowanie ekstraktów z wyłoków aronii – badania wstępne”).

Przeprowadzenie walidacji modelu ekstrakcji

W celu zweryfikowania stopnia zdolności prognostycznej metody powierzchni odpowiedzi w zaprojektowanym doświadczeniu przeprowadzono walidację modelu ekstrakcji. Przy użyciu tego samego zestawu doświadczalnego, w którym zaplanowano eksperyment, przeprowadzono walidację modelu dla pięciu stężeń alkoholu etylowego: 50%, 55%, 60%, 62% i 75% przy 20-minutowym czasie sonikacji. Przygotowane ekstrakty odpowiadające tym założeniom zostały przygotowane i ocenione pod kątem TPC, TAC i DPPH analogicznie jak ekstrakty sporządzone według planu kompozycyjnego.

Wyznaczenie optymalnych warunków ekstrakcji

Do określenia poziomów zmiennych, na których proces ekstrakcji osiągnął wartości optymalne przy przyjętych ograniczeniach, posłużyły wyniki badań empirycznych dopasowanych zgodnie z następującym równaniem wielomianowym drugiego rzędu:

$$Y = \beta_0 + \sum_{i=1}^2 \beta_i X_i + \sum_{i=1}^2 \beta_{ii} X_i^2 + \sum_{i=1}^2 \beta_{ij} X_i X_j + \varepsilon$$

gdzie:

- | | |
|-----------------------------------|---|
| Y | – odpowiedzi przewidywane (TPC, TAC, DPPH), |
| β_0 | – stała modelu, |
| $\beta_i, \beta_{ii}, \beta_{ij}$ | – współczynniki modelu (efekty liniowe, kwadratowe i interaktywne), |
| ε | – błąd. |

Adekwatność modelu matematycznego w postaci wielomianu drugiego stopnia określono na podstawie jego analizy oraz wartości współczynnika determinacji (R^2) i skorygowanego współczynnika determinacji (R^2_a).

4.3.2. Rozdział frakcyjny ekstraktów i analiza wyizolowanych frakcji

Rozdział ekstraktów i analiza wyizolowanych frakcji obejmowała następujące czynności:

- przygotowanie ekstraktów w wyznaczonych optymalnych warunkach ekstrakcji,
- rozdział frakcyjny ekstraktów za pomocą chromatografii kolumnowej,
- analizę właściwości przeciwtleniających,
- analizę związków fenolowych i saponin.

Przygotowanie ekstraktów w wyznaczonych optymalnych warunkach ekstrakcji

Zliofilizowane wytloki aronii Nero poddano ekstrakcji w wyznaczonych warunkach (60-procentowe stężenie alkoholu etylowego i 20 minut sonikacji) za pomocą metody płaszczyzny odpowiedzi RSM przygotowanej według procedury ekstrakcyjnej przedstawionej w podrozdziale „Optymalizacja procesu ekstrakcji”. Tok postępowania z materiałem badawczym był analogiczny do przedstawionego w podrozdziale „Przygotowanie ekstraktów z wytlóków aronii – badania

wstępne”. Uzyskane ekstrakty poddano rozdzielowi frakcyjnemu na złożach LiChrorep RP-18 i poliamid-6.

Rozdział frakcyjny ekstraktów za pomocą chromatografii kolumnowej

Rozdział frakcyjny ekstraktów z wycieków aronii odmiany Nero przeprowadzono w kolumnach szklanych wypełnionych złożem LiChrorep lub poliamidowym. Złoże LiChrorep (50 g) naniesiono za pomocą 200 cm³ 96-procentowego alkoholu etylowego na kolumnę szklaną (6 · 10 cm) połączoną z kolbą ssawkową i pompą pod zmniejszonym ciśnieniem. Pierwszym etapem było kondycjonowanie złoża kolumny w celu jego aktywacji przed naniesieniem ekstraktu. Przez kolumnę przepuszczono w kolejności: 96-procentowy, 80-procentowy, 40-procentowy alkohol etylowy oraz wodę destylowaną. Po między kondycjonowaniem a naniesieniem próbki pozostawiono nadmiar około 1 mm rozpuszczalnika w kolumnie, aby nie dopuścić do wyschnięcia złoża. Następnie naniesiono 25 cm³ ekstraktu przygotowanego według procedury opisanej w podrozdziale „Przygotowanie ekstraktów w wyznaczonych optymalnych warunkach ekstrakcji” na złoże kolumny i eluowano zaadsorbowany analit. W pierwszej kolejności kolumnę przemywano wodą destylowaną, następnie zastosowano 40-procentowy, 80-procentowy i 96-procentowy alkohol etylowy. Szybkość przepływu roztworu przez złoże nie przekraczała 5 cm³/min. Otrzymano cztery frakcje, które zagęszczono pod zmniejszonym ciśnieniem i przechowywano w temperaturze –20°C do czasu analizy. W przypadku rozdziału frakcji na złożu poliamidowym zastosowano analogiczną procedurę ekstrakcyjną do procedury na złożu LiChrorep.

Analiza właściwości przeciwutleniających

Właściwości przeciwutleniające ekstraktów z wycieków aronii i ich frakcji określono za pomocą testu z rodnikiem DPPH zgodnie z metodyką opisaną w podrozdziale „Przygotowanie ekstraktów z wycieków aronii – badania wstępne”.

Analiza związków fenolowych i saponin

W uzyskanych ekstraktach z wycieków aronii i ich frakcji oznaczono następujące grupy związków:

- ogólną zawartość związków fenolowych (TPC),
- ogólną zawartość antocyjanów (TAC),
- ogólną zawartość saponin (TSC).

TPC oraz TAC oznaczono zgodnie z metodykami badawczymi zaprezentowanymi w podrozdziale „Przygotowanie ekstraktów z wycieków aronii – badania wstępne”. Ponadto wykonano wstępną analizę jakościową związków wy-

stępujących w ekstraktach z wykorzystaniem wysokosprawnej chromatografii cieczowej połączonej z spektrometrem mas z analizatorem typu pułapka jonowa (HPLC-ESI-IT-MS), a także z wykorzystaniem ultrasprawnej chromatografii cieczowej połączonej z wysokorozdzielczym spektrometrem mas z analizatorem typu Orbitrap (UPLC-Q-Orbitrap-MS).

Analiza HPLC-ESI-IT-MS

Analizy mające na celu wstępną identyfikację związków występujących w wyizolowanych frakcjach ekstraktów z wyłoków aronii przeprowadzono metodą wysokosprawnej chromatografii cieczowej połączonej z spektrometrem mas z analizatorem typu pułapka jonowa, w Instytucie Genetyki Roślin Polskiej Akademii Nauk w Poznaniu. Analizę przeprowadzono w jonizacji ujemnej i dodatniej z wykorzystaniem wysokosprawnego chromatografu cieczowego (Agilent 1100, Agilent, Santa Clara, USA) wyposażonego w spektrometr masowy (Esquire 3000, Bruker Daltonics, Brema, Niemcy) z analizatorem pułapki jonowej pozwalającym uzyskać widma MS/MSn. Próbkę, po uprzednim przefiltrowaniu przez filtr strzykawkowy o średnicy porów 0,45 μm (Millex LCR), wprowadzono poprzez iniektor manualny w ilości 20 μl i rozdzielano na kolumnie XBridge Waters 2,1 \cdot 150 mm, wypełnionej złożem o odwróconej fazie (żel krzemionkowy C18), o uziarnieniu 3,5 μm . Próby rozdzielano z wykorzystaniem dwóch faz ciekłych, które stanowiły: woda dejonizowana z dodatkiem 0,1-procentowego kwasu mrówkowego (rozpuszczalnik A) i acetonitryl (rozpuszczalnik B), przy przepływie 0,2 cm^3/min . Frakcje rozdzielano według gradientu: inicjująco 10% B, 5 min – 25% B, 50 min – 37% B, 55 min – 95% B, 63 min – 95% B, 64 min – 10% B.

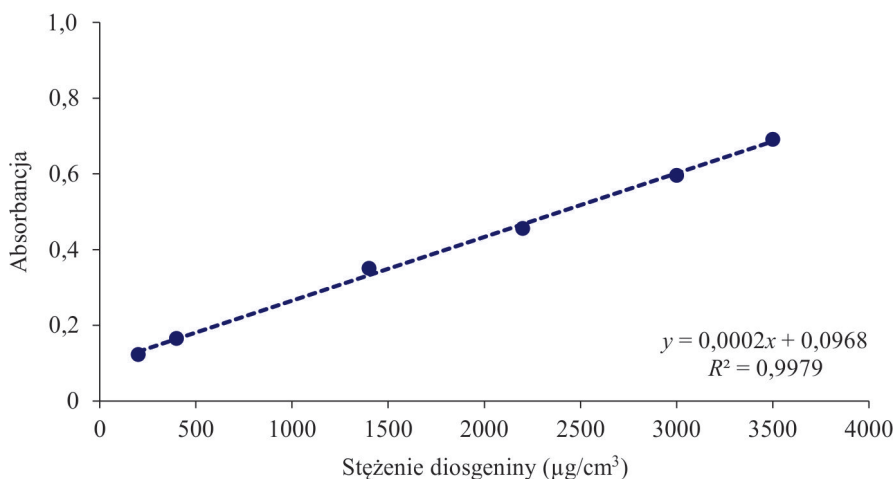
Analiza UPLC-Q-Orbitrap-MS

W celu oznaczenia składu elementarnego substancji naturalnych zawartych w wyizolowanych frakcjach ekstraktów z wyłoków aronii zastosowano metodę ultrasprawnej chromatografii cieczowej połączonej z wysokorozdzielczym spektrometrem mas z analizatorem typu Orbitrap. Analizę przeprowadzono w Instytucie Genetyki Roślin Polskiej Akademii Nauk w Poznaniu. Badanie wykonano za pomocą aparatu Acquity (Waters, Milford, USA) połączonego ze spektrometrem mas QExactive (Thermo Fischer Scientific, Waltham, USA) ze źródłem jonów HESI. Próbkę rozdzielano na kolumnie Acquity BEH C18 (Waters) 150 \cdot 2,1 mm, o uziarnieniu 1,7 μm . Związki były wymywane z wykorzystaniem dwóch faz, z których jedną stanowiła woda dejonizowana z dodatkiem 0,1-procentowego kwasu mrówkowego (rozpuszczalnik A), a drugą acetonitryl (rozpuszczalnik B). Rozdział UPLC przeprowadzono według gradientu: inicjująco 5% B, 1 min – 5% B, 3 min – 10% B, 12 min – 40% B, 15 min – 95% B,

15,5 min – 95% B, 16 min – 5% B, 20 min – 5%. Rozdział prowadzono w 40°C przy przepływie 0,35 cm³/min. Do wstępnej analizy struktur chemicznych substancji naturalnych występujących w wyizolowanych frakcjach ekstraktów z wyłóków aronii posłużyły widma masowe fragmentacyjne oraz widma wysokorozdzielcze.

Oznaczenie ogólnej zawartości saponin (TSC)

Ogólną zawartość saponin w ekstraktach określono metodą opisaną przez Navarro del Hierro i in. (2018). Pobrano 125 µl próbki, następnie dodano 125 µl 0,8-procentowej waniliny rozpuszczonej w 96-procentowym alkoholu etylowym i 1,25 cm³ 72-procentowego kwasu siarkowego (VI). Próbkę wirowano i ogrzewano w 60°C przez 10 minut. Tak przygotowane próbki schładzano w lodzie przez 5 minut, następnie zmierzono absorbancję przy długości fali 520 nm względem próbki kontrolnej zawierającej alkohol etylowy. Ogólną zawartość saponin w ekstraktach wyznaczono na podstawie krzywej wzorcowej (rysunek 23), którą przygotowano w tych samych warunkach, jakie podano wcześniej dla próbek. Wyniki wyrażono w g diosgeniny/100 g s.m. frakcji ekstraktu.



Rysunek 23. Krzywa wzorcowo do oznaczania ogólnej zawartości saponin

Źródło: Opracowanie własne.

4.3.3. Opracowanie i techniczne testowanie koncepcji eksperymentalnych osłonek jadalnych

Opracowanie i techniczne testowanie koncepcji eksperymentalnych osłonek jadalnych obejmowało następujące czynności:

- opracowanie koncepcji eksperymentalnych osłonek jadalnych,
- techniczne testowanie koncepcji eksperymentalnych osłonek jadalnych,
- oszacowanie bezpośrednich kosztów wytworzenia eksperymentalnych osłonek jadalnych.

Opracowanie koncepcji eksperymentalnych osłonek jadalnych

Eksperymentalne osłonki jadalne zaprojektowano metodą opisaną przez Genskowsky'ego i in. (2015), wykorzystując chitozan jako podstawowy składnik strukturotwórczy. W tym celu 6 g chitozanu o średniej masie cząsteczkowej (300–1000 cps) rozpuszczono w 300 cm³ 1-procentowego wodnego kwasu mlekowego (v/v). Otrzymano 2-procentowy roztwór chitozanu (w/v), który mieszano na mieszadle magnetycznym w temperaturze pokojowej przez 26 godzin. Następnie dodano 2,5 cm³ gliceryny na 1 g chitozanu i mieszano przez 1 godzinę. Po tym czasie dodano odpowiednio 0,5%, 1%, 1,5% frakcji 2 wyizolowanej na złożu poliamidowym do otrzymanych roztworów chitozanu. Frakcja 2 ekstraktu z wyłoków aronii (odmiany Nero) wyizolowana na złożu poliamidowym charakteryzowała się najwyższymi właściwościami przeciwutleniającymi. Równolegle przygotowano próbkę kontrolną bez dodatku ekstraktu. Następnie próbki mieszano przez 1 godzinę, po czym wszystkie mieszaniny wirowano przez 20 minut na 5000 obrotów. Próbki w ilości 20 g pobrano i wylano do jałowych szalek Petriego o średnicy 9 cm. Próbki suszono w temperaturze 37°C przez 72 godziny. Wysuszone osłonki chitozanowe przechowywano w eksykatorze w temperaturze pokojowej przy wilgotności względnej 50% do czasu przeprowadzenia analiz.

Techniczne testowanie koncepcji eksperymentalnych osłonek jadalnych

W celu oceny właściwości użytkowych uzyskanych eksperymentalnych osłonek chitozanowych z dodatkiem i bez dodatku frakcji 2 ekstraktu z wyłoków aronii wykonano następujące badania:

- instrumentalny pomiar barwy ($L^*a^*b^*$, $L^*C^*h^\circ$),
- transmitancję optyczną (T),
- rozpuszczalność w wodzie (WS),
- szybkość przenikania pary wodnej (WVTR) i przepuszczalność pary wodnej (WVP),
- przepuszczalność tlenu (OTR),
- analizę struktury za pomocą spektroskopii w podczerwieni z transformacją Fouriera (FTIR),
- skaningową mikroskopię elektronową (SEM),
- analizę właściwości przeciwutleniających (DPPH, ABTS).

Instrumentalny pomiar barwy ($L^*a^*b^*$, $L^*C^*h^\circ$)

Parametry barwy oznaczono w systemie CIE $L^*a^*b^*$ znormalizowanym przez Międzynarodową Komisję Oświetleniową (CIE International Commission on Illumination, 2019) oraz w systemie $L^*C^*h^\circ$. Pomiar parametrów barwy przeprowadzono w zakresie światła widzialnego (VIS) od 250 nm do 850 nm, stosując typ obserwatora 10° oraz iluminant D65. W celu dokonania oznaczeń parametrów barwy z badanych chitozanowych osłonek wycięto obszar o wymiarach 20 mm · 20 mm i umieszczono w odpowiedniej przystawce do pomiaru barwy w spektrofotometrze Jasco V-770 w trzech powtórzeniach dla każdego rodzaju osłonki. W systemie CIE $L^*a^*b^*$ zdefiniowano trzy składowe: L^* , która przyjmuje wartości od 100 (barwa idealnie biała) do 0 (barwa idealnie czarna) i oznacza jasność, oraz a^* i b^* , które wyrażają chromatyczność barwy. Wartość a^* określa odcienie czerwieni ($+a^*$) i zieleni ($-a^*$), wartość b^* zaś przedstawia odcienie żółci ($+b^*$) i niebieskiego ($-b^*$). System $L^*C^*h^\circ$ opiera się również na trzech składowych, gdzie L^* opisuje jasność, C^* określa stopień nasycenia barwy, natomiast parametr h° wyraża kąt tonu barwy ($0-360^\circ$) (Gliszczyńska-Świągło, 2016).

Transmitancja optyczna (T)

Właściwości optyczne chitozanowych osłonek oceniono pod względem przepuszczalności światła w zakresie długości fali od 250 do 850 nm. Pomiaru optyczne przeprowadzono za pomocą spektrofotometru Jasco z podwójną wiązką V-770 w temperaturze pokojowej. Wyniki wyrażono jako procent transmitancji (% T) próbek.

Rozpuszczalność w wodzie (WS)

Przed pomiarem z chitozanowych osłonek wycięto kwadraty o wymiarach 20 mm · 20 mm i zważono. Próbki następnie suszono w 75°C przez 24 godziny w celu ustalenia początkowej suchej masy (W_1). Wysuszone próbki zanurzono w 30 cm³ wody destylowanej na 24 godziny w temperaturze pokojowej. Na koniec próbki suszono ponownie w 75°C przez 24 godziny i zważono (W_2) (Tan i in., 2020). Rozpuszczalność chitozanowych osłonek (%) określono zgodnie z następującym wzorem:

$$WS = \frac{W_1 - W_2}{W_1} \cdot 100\%$$

gdzie:

WS – rozpuszczalność w wodzie (%),

W_1 – początkowa sucha masa osłonki (g),

W_2 – masa osłonki, która nie rozpuściła się w 30 cm³ wody w ciągu 24 godzin w 75°C (g).

Szybkość przenikania pary wodnej (WVTR) i przepuszczalność pary wodnej (WVP)

Szybkość przenikania pary wodnej i przepuszczalność pary wodnej chitozanych osłonek zostały określone zgodnie z normą PN-ISO 2528:2000 (Polski Komitet Normalizacyjny, 2000) i według metodyki opisanej przez Priyadarshi i in. (2018). Naczynia pomiarowe wypełniono 180 g suszającego żelu krzemionkowego i zamknięto metalową pokrywką z gumowymi uszczelkami, pomiędzy którymi umieszczono analizowane osłonki. Naczynia następnie zważono z dokładnością do 0,001 g i umieszczono w eksykatorze o wilgotności względnej 70%. Eksykator umieszczono w inkubatorze w temperaturze 25°C. Wzrost masy naczyń określono w czasie 8 godzin w odstępach godzinnych. Wartości szybkości przenikania pary wodnej (WVTR) i przepuszczalności pary wodnej (WVP) dla każdej osłonki obliczono zgodnie z następującymi wzorami:

$$WVTR = \frac{w}{A \cdot t}$$

gdzie:

$WVTR$ – szybkość przenikania pary wodnej (g / (m² · d)),

w – przyrost masy (g),

t – czas (doba),

A – powierzchnia przenoszenia pary wodnej (m²);

$$WVP = \frac{WVTR \cdot d}{p \cdot (R_1 - R_2)}$$

gdzie:

WVP – przepuszczalność pary wodnej (g/(Pa · s · m)),

$WVTR$ – szybkość przenikania pary wodnej (g/(m² · d)),

d – grubość folii (m),

t – czas (s),

p – prężność pary nasyconej wody (31,7 mbar w 25°C),

R_1 – wilgotność względna w eksykatorze na zewnątrz naczynia (%),

R_2 – wilgotność względna wewnątrz naczynia (%).

Przepuszczalność tlenu (OTR)

Przepuszczalność tlenu określono na podstawie metody ASTM F3136-15 (ASTM International, 2015) za pomocą systemu OxyPerm składającego się z analizatora Oxysense 325 i dedykowanej komory przepuszczalnej z wbudowanym

czujnikiem tlenu OxyDot. System mierzy zmiany stężenia tlenu na podstawie czasu gaszenia fluorescencji zgodnie z ASTM F2714-08 (ASTM International, 2013). Próbkę do badań pocięto na kwadraty o wymiarach 60 mm · 60 mm. Temperatura podczas testów wynosiła 23°C, a wilgotność względna 65%. Pomiary zakończono, gdy współczynnik determinacji między poszczególnymi pomiarami był większy niż 0,95.

Analiza struktury za pomocą spektroskopii w podczerwieni z transformacją Fouriera (FTIR)

Widma w podczerwieni chitozanowych osłonek określano za pomocą spektrometru PerkinElmer Spectrum 100 w podczerwieni z transformacją Fouriera, stosując tryb tłumionego całkowitego odbicia (ATR). Chitozanowe osłonki analizowano za pomocą FTIR w funkcji transmisji. Widma FTIR uzyskano w zakresie od 4000 cm⁻¹ do 500 cm⁻¹, z rozdzielczością 1 cm⁻¹ i 95 skanów. Spektrometr i przystawkę ATR przed pomiarem czyszczono 96-procentowym alkoholem etylowym.

Skaningowa mikroskopia elektronowa (SEM)

Badanie morfologii powierzchni chitozanowych osłonek przeprowadzono w Laboratorium Naukowo-Dydaktycznym Nanotechnologii i Technologii Materiałowych na Politechnice Śląskiej w Gliwicach. Analizę wykonano skaningowym mikroskopem elektronowym (SEM) Zeiss Supra 35. Napięcie przyspieszające wynosiło 1 ÷ 5 kV. Detektor w elektronach wtórnych (SE) zastosowano do uzyskania obrazów topografii powierzchni. Obrazy zostały zarejestrowane przy powiększeniach 5000 ÷ 30 000 razy. Za pomocą spektroskopii dyspersyjnej energii (EDS) przeprowadzono jakościowe badanie składu chemicznego chitozanowych osłonek.

Analiza właściwości przeciwutleniających (DPPH, ABTS)

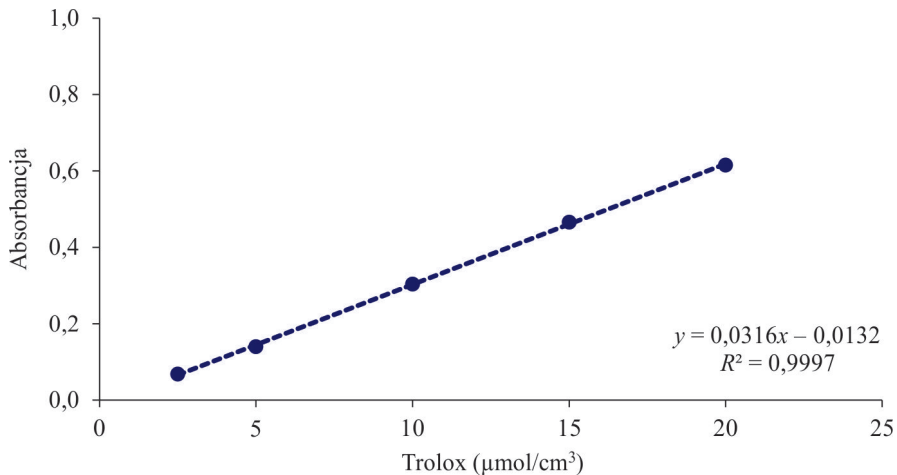
Oznaczanie aktywności przeciwutleniającej chitozanowych osłonek przeprowadzono za pomocą dwóch metod:

- metody z rodnikiem DPPH (według procedury opisanej w podrozdziale „Przygotowanie ekstraktów z wycieków aronii – badania wstępne”, wyniki wyrażono w mmol troloxu/100 g osłonki).
- metody TEAC z kationorodnikiem ABTS.

Oznaczanie aktywności przeciwutleniającej metodą TEAC z kationorodnikiem ABTS

Do oznaczenia zdolności zmiatania wolnych rodników wykorzystano reakcję badanych próbek z kationorodnikami ABTS. Oznaczenie wykonano według metody Re i in. (1999). Do kolbki miarowej o pojemności 25 cm³ odważono 0,096 g ABTS^{•+} i rozpuszczono w 2,45 mM roztworze nadsiarczanu potasu. Uzyskano 7,0 mM roztwór podstawowy kationorodników ABTS. Roztwór ten inkubowano

przez 24 godziny w ciemnym miejscu w temperaturze pokojowej. Następnie rozcieńczano go buforem fosforanowym o pH 7,4, aby osiągnąć absorbancję około 0,75, mierzoną przy długości fali 734 nm. Do analizy pobierano 1,98 cm³ roztworu roboczego kationorodnika ABTS i 0,02 cm³ próbki. Spadek absorbancji mierzono przy długości fali 734 nm po 6 minutach. Równolegle przygotowano krzywą wzorcową zależności absorbancji od stężenia troloxu (rysunek 24). Wyniki wyrażono w przeliczeniu na mmol troloxu/g osłonki.



Rysunek 24. Krzywa wzorcową do obliczania wartości TEAC

Źródło: Opracowanie własne.

Pomiary spektrofotometryczne dla wskazanych oznaczeń przeprowadzono z wykorzystaniem dwuwiązkowego spektrofotometru Jasco V-770 w trzech powtórzeniach dla każdego ekstraktu.

Oszacowanie bezpośrednich kosztów wytworzenia osłonek jadalnych

W celu zidentyfikowania poszczególnych elementów kosztów wytworzenia chitozanowych osłonek przeprowadzono szacowanie kosztów metodą inżynierską. Metoda ta pozwala na bezpośrednie badanie wyrobu, komponent po komponencie zgodnie ze standardem PN-EN 60300-3-3:2017-07 Zarządzanie niezawodnością – Część 3-3: Przewodnik zastosowań – Szacowanie kosztu cyklu życia (International Organization for Standardization, 2017). Do kalkulacji kosztów przyjęto koszty pozostające w bezpośrednim związku z wytworzonymi osłonkami, tj. koszt surowców podstawowych, koszt liofilizatu z wyłoków aronii, koszt wytworzenia ekstraktu z wyłoków aronii i koszt produkcji osłonek oraz uzasadnioną część kosztów pośrednio związanych z wytworzeniem tych osłonek.

4.3.4. Przeprowadzenie indywidualnego wywiadu pogłębianego

Ocenę postrzegania i perspektyw rozwoju innowacyjnych osłonek jadalnych przez wybrane branże przeprowadzono metodą indywidualnego wywiadu pogłębianego (*individual in-depth interview* – IDI). Na to badanie składały się następujące etapy:

- opracowanie scenariusza indywidualnego wywiadu pogłębianego,
- przeprowadzenie wywiadów metodą indywidualnego wywiadu pogłębianego,
- przygotowanie transkrypcji z nagranych indywidualnych wywiadów pogłębianych i analiza otrzymanych danych.

Opracowanie scenariusza indywidualnego wywiadu pogłębianego

Na pierwszym etapie opracowano narzędzie badawcze, którym był scenariusz wywiadu, służący strukturyzacji wywiadu oraz upewnieniu się, że wszystkie istotne kwestie zostały poruszone z respondentem. Scenariusz indywidualnego wywiadu pogłębianego obejmował pytania otwarte, pozwalające badanym podmiotom na swobodę wypowiedzi w zakresie pożądaných treści. Scenariusz składał się z części metryczkowo-ewidencyjnej oraz z trzech obszarów tematycznych:

- Obszar 1. Osłonki jadalne – dotychczasowe stosowanie.
- Obszar 2. Chitozanowe osłonki jadalne – innowacyjne rozwiązanie.
- Obszar 3. Chitozanowe osłonki jadalne – silne i słabe strony, potencjalne zastosowanie.

Scenariusz wywiadu zaprezentowano w załączniku.

Przeprowadzenie wywiadów metodą indywidualnego wywiadu pogłębianego

Na drugim etapie badania przeprowadzono indywidualne wywiady pogłębione wśród przedsiębiorstw związanych z branżą opakowaniową i przemysłem owocowo-warzywnym, tj. producentami folii i osłonek oraz producentami i przetwórcami owoców i warzyw. Wybór branż był podyktowany:

- dynamicznym rozwojem kategorii produktowych w ramach branż,
- zróżnicowaniem pod względem wielkości podmiotów rynkowych oferujących lub korzystających ze zbliżonych produktów,
- wysoką innowacyjnością procesów i produktów w ramach badanych branż.

Kryteriami doboru przedsiębiorstw w danej branży były: charakter i wielkość przedsiębiorstwa, znaczenie na rynku (udziały rynkowe) oraz udział innowacyjnych produktów w portfelu produktowym. Badanie zostało przeprowadzone z technologami i menedżerami wyższego szczebla reprezentującymi 19 przedsiębiorstw po-

szczególnych branż. Zakres czasowy badania obejmował okres od września 2019 do grudnia 2019 roku. Czas trwania pojedynczego badania wynosił około 30 minut. Charakterystykę badanych przedsiębiorstw przedstawiono w tabeli 9.

Tabela 9. Charakterystyka badanych przedsiębiorstw

Wyszczólnienie	Liczba podmiotów
Branża	
Producent folii i osłonek	8
Producent owoców i warzyw	5
Przetwórcza owoców i warzyw	6
Kategoryzacja podmiotu	
Duże przedsiębiorstwo (250 i więcej)	4
Średnie przedsiębiorstwo (50–249)	5
Małe przedsiębiorstwo (10–49)	5
Mikroprzedsiębiorstwo (poniżej 10)	5
Skala działania	
Regionalna	5
Krajowa	10
Europejska	3
Pozaeuropejska	1

Źródło: Opracowanie własne.

Przygotowanie transkrypcji z nagranych indywidualnych wywiadów pogłębionych i analiza otrzymanych danych

Oprzysiężowaniem wykorzystywanym w trakcie przeprowadzonych wywiadów była rejestracja audio za pomocą dyktafonu. Na trzecim etapie na podstawie nagranych wywiadów przygotowano transkrypcje jako działanie ułatwiające szczegółową analizę zebranego materiału. Następnie przeprowadzono analizę zebranych informacji.

4.3.5. Analiza statystyczna wyników

Analizę statystyczną wszystkich otrzymanych wyników przeprowadzono przy użyciu komercyjnego pakietu statystycznego Statistica 13.1 (StatSoft).

1. W oznaczeniach fizykochemicznych obliczono podstawowe statystyki opisowe. W celu porównania wartości średnich przeprowadzono analizę wariancji (ANOVA). Dla zweryfikowania istotności różnic między wartościami średnimi zastosowano test Tukeya. W szacowaniu statystycznym za poziom istotności przyjęto $p \leq 0,05$.

2. W optymalizacji procesu ekstrakcji do określenia interakcji między badanymi zmiennymi pozwalającymi na wyznaczenie właściwej odpowiedzi przy minimalnej liczbie doświadczeń zastosowano metodę płaszczyzny odpowiedzi (RSM), która wykorzystuje metody analizy matematycznej oraz statystycznej. W celu dopasowania modelu matematycznego w postaci wielomianu drugiego stopnia dla uzyskanych wyników eksperymentalnych przeprowadzono analizę wariancji (ANOVA) oraz analizę regresji wielorakiej. Dla zwerifikowania istotności różnic pomiędzy wartościami średnimi zastosowano test Tukeya. W szacowaniu statystycznym za poziom istotności przyjęto $p \leq 0,05$. Analizie statystycznej poddano także otrzymane wyniki badań empirycznych frakcji (TPC, TAC i DPPH) otrzymanych za pomocą chromatografii kolumnowej na złożach LiChroprep i poliamidowym. Obliczono wartości statystyki Fishera (F) oraz poziomy prawdopodobieństwa (p), przy poziomie istotności $\alpha = 0,05$.





5. Wyniki badań i ich ocena

5.1. Charakterystyka surowca do badań

Ocenę jakości surowca, z którego pozyskano wyłoki do badań, przeprowadzono dla odmian Nero i Galicjanka. Są to specjalnie wyselekcjonowane odmiany hodowlane z gatunku aronii czarnoowocowej. Nero i Galicjanka są, odpowiednio, przykładami odmiany czeskiej i polskiej aronii, charakteryzują się dużą plennością i odpornością na szkodliwe czynniki środowiskowe (Kulling i Rawel, 2008). Pewne cechy morfologiczne tych odmian są cechami diagnostycznymi, pozwalającymi na ich rozróżnienie.



Rysunek 25. Przekrój podłużny i poprzeczny owoców aronii odmiany (A) Nero i (B) Galicjanki

Źródło: Fotografie własne.

Badane odmiany owoców różniły się kształtem jagody (rysunek 25). Owoc odmiany Galicjanka miał lekko spłaszczony kształt, w porównaniu z owocami odmiany Nero, które charakteryzowały się lekko wydłużonym kształtem. Barwa owoców odzwierciedla rodzaj i liczbę związków barwiących.

Jest to ważna cecha ich jakości i atrakcyjności. Badane owoce aronii miały barwę od ciemnoczerwonej do ciemnofioletowej. Należy podkreślić, że były to owoce bardzo dobrze, intensywnie i jednolicie wybarwione. Średnia masa pojedynczej jagody dla badanych odmian wynosiła 1,12 i 1,34 g, odpowiednio dla odmiany Nero i Galicjanka, a ich średnice wynosiły około 10,9 mm (Nero) i 12,5 mm (Galicjanka). Według danych literaturowych odmiana Galicjanka wytwarza największe owoce, najmniejsze są owoce odmiany Nero (Ochmian i in., 2012). Wielkość owoców jest jednym z czynników świadczącym o ich jakości i determinującym ich przeznaczenie. Do konsumpcji bezpośredniej przeznaczają się owoce większe, a mniejsze zazwyczaj są wykorzystywane przez przemysł przetwórczy (Ochmian i in., 2013). Świeże owoce aronii charakteryzują się cierpkim, kwaśnym smakiem i z tego względu ich bezpośrednia konsumpcja jest ograniczona. Są one przede wszystkim wykorzystywane w przemyśle przetwórczym. Przetwarza się je głównie do postaci soków, dżemów, win i herbatk owocowych.

W warunkach procesu produkcji soku aroniowego z 18 kg owoców każdej z odmian otrzymano 2,97 kg wytlóków odmiany Nero (WN) i 3,33 kg wytlóków odmiany Galicjanka (WG). Ilość uzyskanych wytlóków w skali laboratoryjnej kształtowała się na poziomie 16% (WN) i 18% (WG). W praktyce przemysłowej może to oznaczać, że około 16%–18% suchej masy owoców aronii, pozostającej w skórce i nasionach, nie jest obecnie wykorzystane, a w sprzyjających warunkach może być źródłem substancji o właściwościach przeciwutleniających i błonnika pokarmowego. Dane literaturowe wskazują, że produkty uboczne pochodzące z owoców mogą stanowić nawet około 20%–60% w stosunku do masy substratu (Amaya-Cruz i in., 2015; Klimczak i in., 2011; Padayachee i in., 2017).

Otrzymane w procesie tłoczenia soku wytlóki aronii poddano procesowi liofilizacji, ponieważ proces ten nie powoduje degradacji cieplnej materiału, zachowany zostaje kształt i wygląd surowca oraz największa szybkość ponownego uwodnienia (Zalewska i in., 2016). W wyniku zastosowanego procesu liofilizacji otrzymano 1,26 kg (WN) i 1,49 kg (WG) wysuszonych wytlóków. Następnie liofilizaty wytlóków zmielono do wielkości cząstek wynoszącej średnio 8,89 μm . W wyniku zmielenia uzyskano mniejszą i bardziej zhomogenizowaną próbkę, co prowadziło do lepszego kontaktu powierzchni próbki z rozpuszczalnikiem ekstrakcyjnym. Suszenie jest jednym z najważniejszych procesów podstawowych w technologii przemysłu spożywczego. Z jednej strony proces ten prowadzi do spadku aktywności wody, a także do zahamowania reakcji enzymatycznych i nieenzymatycznych, w wyniku czego produkt staje się trwały. Natomiast z drugiej strony usunięcie wody z żywności w procesie suszenia może prowadzić do utraty właściwości odżywczych i sensorycznych produktów spożywczych (Ahrne i in., 2007; Stojanovic i Silva, 2007). W badaniach roślin w większo-

ści przypadków preferowana jest wysuszona próbka, ze względu także na czas potrzebny do zaprojektowania eksperymentu. Zastosowanie optymalnej techniki suszenia materiału roślinnego ma istotne znaczenie w utrzymaniu w nim wysokiego poziomu związków o charakterze przeciwutleniającym. Bober i Oszmiański (2004) zaobserwowali, że najwięcej barwników antocyjanowych zawierał wyciąg z wyłoków aronii poddanych procesowi liofilizacji, a najmniej tych związków było przy zastosowaniu suszenia owiewowego. Według Thi i Hwang (2016) najwyższą zawartością polifenoli, w tym flawonoidów i antocyjanów, charakteryzowały się zliofilizowane owoce aronii, a najniższą owoce aronii suszone w piekarniku. W porównaniu z innymi metodami suszenia liofilizacja gwarantuje otrzymanie produktu o najlepszej jakości. W badaniach przeprowadzonych przez Zalewską i in. (2016) barwa, smak oraz jakość ogólna wybranych owoców liofilizowanych zostały ocenione przez respondentów wyżej niż owoce po suszeniu konwekcyjnym. Proces liofilizacji pozwolił na zachowanie barwy zbliżonej do owoców świeżych.

Mając na uwadze powyższe wyniki, stwierdzono, że wybrane cechy morfologiczne badanych odmian aronii są cechami diagnostycznymi pozwalającymi na ich rozróżnienie i mogą być jednym z czynników, który wpływa na zawartość substancji bioaktywnych występujących w wyłokach aronii.

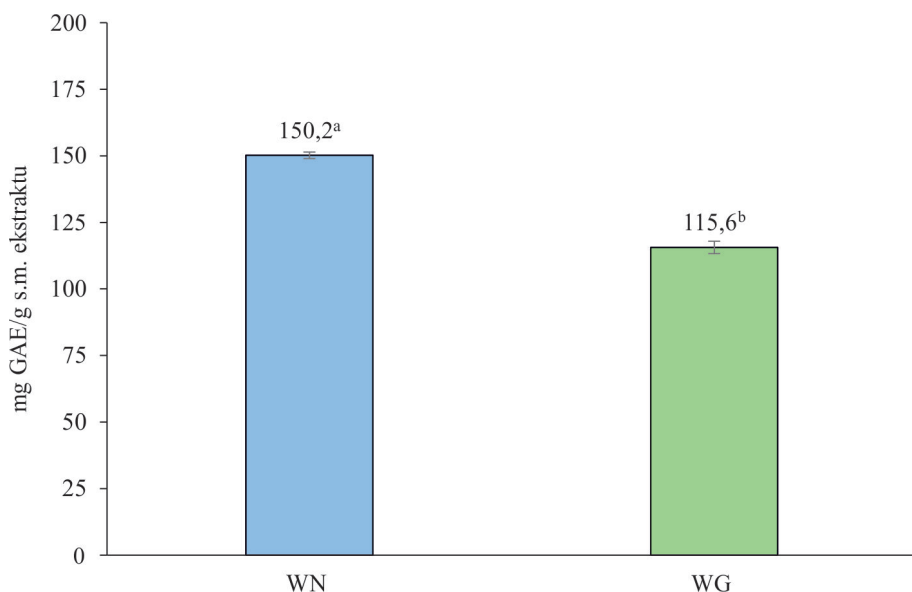
5.2. Wstępna ocena właściwości przeciwutleniających wyłoków aronii

Wstępną ocenę właściwości przeciwutleniających przeprowadzono na podstawie określenia:

- ogólnej zawartości związków fenolowych,
- ogólnej zawartości antocyjanów,
- właściwości przeciwutleniających za pomocą testu z rodnikiem DPPH.

Ocena ogólnej zawartości związków fenolowych w ekstraktach z wyłoków aronii uzyskanych w wyniku ekstrakcji 80-procentowym roztworem alkoholu etylowego

Ogólną zawartość związków fenolowych w ekstraktach z wyłoków aronii odmiany Nero (WN) i Galicjanka (WG) przedstawiono na rysunku 26. Ogólna zawartość związków fenolowych w ekstraktach wyłoków aronii odmiany Nero była o około 23% wyższa w porównaniu z wyłokami aronii odmiany Galicjanka i wyniosła średnio 150,2 mg GAE/g suchej masy ekstraktu.



Objaśnienia: a, b – wartości średnie oznaczone różnymi literami różnią się statystycznie istotnie ($p < 0,05$).

Rysunek 26. Ogólna zawartość związków fenolowych w ekstraktach z wytlóków aronii uzyskanych w wyniku ekstrakcji 80-procentowym roztworem alkoholu etylowego odmiany Nero (WN) i Galicjanka (WG)

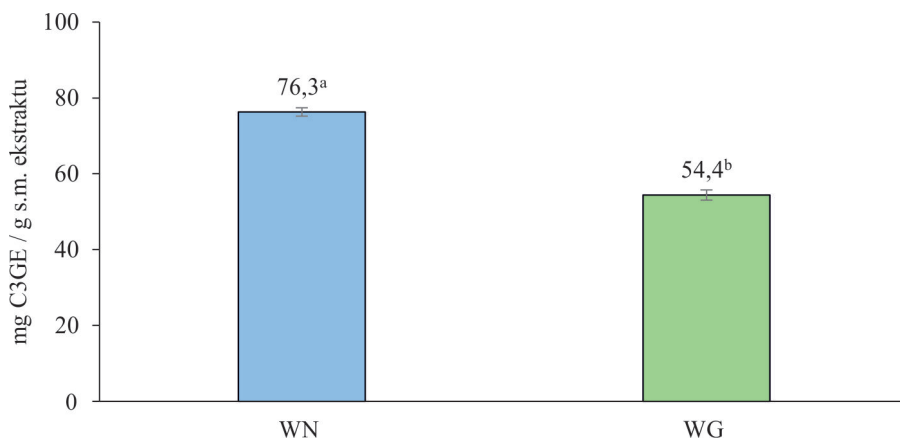
Źródło: Opracowanie własne.

Według danych literaturowych odmiany aronii takie jak Viking i Nero zawierają więcej związków fenolowych niż odmiana Galicjanka (Jakobek i in., 2012). Związki fenolowe występują we wszystkich elementach rośliny: korze, kwiatach, nasionach, liściach, korzeniach, owocach i częściach zdrewniałych (Jeszka i in., 2010). Ponieważ charakteryzują się zróżnicowaną budową chemiczną i właściwościami chemicznymi, fizycznymi oraz biologicznymi, ich zawartość w poszczególnych elementach rośliny może się znacząco różnić. Ogólna zawartość związków fenolowych w różnych odmianach aronii może wynosić 690–2560 mg GAE/100 g świeżej masy (Jakobek i in., 2007; Rop i in., 2010). Ochmian i in. (2012) oznaczyli ogólną zawartość związków fenolowych w owocach aronii na poziomie 819–1330 mg GAE/100 g świeżej masy. Według Mayer-Miebach i in. (2012) zawartość związków fenolowych ogółem w owocach kształtowała się na poziomie 1500–1790 mg GAE/100 g świeżej masy, natomiast w wytlókach od 3100 do 6300 mg GAE/100 g świeżej masy. Kapci i in. (2013) podają zawartość związków fenolowych ogółem na poziomie 1330 mg/100 g dla owoców i 6310 mg/100 g dla wytlóków. Przedstawione wyniki wskazują, że wytloki aronii są kilkukrotnie bogatszym źródłem związków fenolowych w porównaniu z całymi owocami. W badaniach własnych

stwierdzono, że ekstrakty WN i WG w obrębie zastosowanej odmiany wyłoków wykazywały statystycznie istotne różnice ($p < 0,05$) pod względem ogólnej zawartości związków fenolowych.

Ocena ogólnej zawartości antocyjanów w ekstraktach z wyłoków aronii uzyskanych w wyniku ekstrakcji 80-procentowym roztworem alkoholu etylowego

Ogólną zawartość antocyjanów w ekstraktach z wyłoków aronii odmiany Nero (WN) i Galicjanka (WG) przedstawiono na rysunku 27. Ogólna zawartość antocyjanów w ekstraktach z wyłoków aronii odmiany Nero była o około 29% wyższa w porównaniu z ekstraktami z wyłoków aronii odmiany Galicjanka i wyniosła średnio 76,3 mg C3GE/g suchej masy ekstraktu. Badane ekstrakty WN i WG istotnie się różniły pod względem ogólnej zawartości antocyjanów.



Objaśnienia: a, b – wartości średnie oznaczone różnymi literami różnią się statystycznie istotnie ($p < 0,05$).

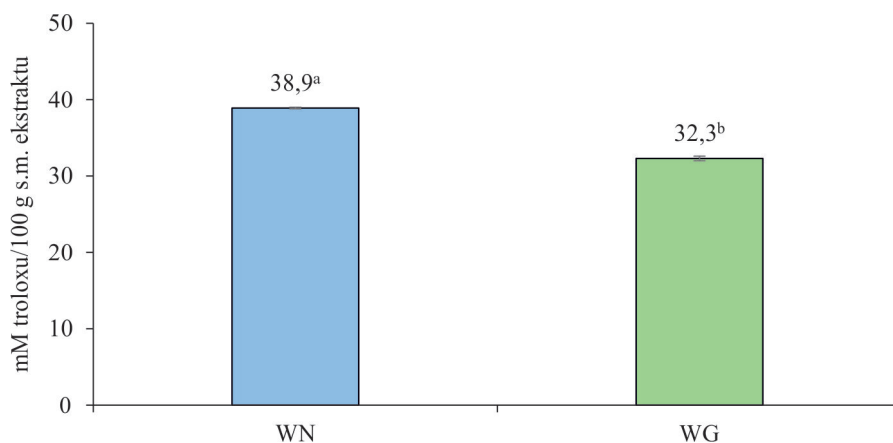
Rysunek 27. Ogólna zawartość antocyjanów w ekstraktach z wyłoków aronii uzyskanych w wyniku ekstrakcji 80-procentowym roztworem alkoholu etylowego odmiany Nero (WN) i Galicjanka (WG)

Źródło: Opracowanie własne.

Wyłoki aronii, które pozostają jako odpad po produkcji soku zawierają między 60% a 80% barwników antocyjanowych surowca (Białek i in., 2012; Fronc i Oszmiański, 1994). Barwniki owoców aronii gromadzą się głównie w skórce, którą trudniej poddaje się tłoczeniu niż miąższ. Wśród antocyjanów aronii dominuje 3-galaktozyd cyjanidyny (57%) odznaczający się najwyższą aktywnością przeciwutleniającą spośród wszystkich znanych antocyjanów (Bober i Oszmiański, 2004; Espin i in., 2000).

Ocena właściwości przeciwutleniających w ekstraktach z wyłoków aronii uzyskanych w wyniku ekstrakcji 80-procentowym roztworem alkoholu etylowego

Właściwości przeciwutleniające określone za pomocą testu z rodnikiem DPPH dla zbadanych ekstraktów przedstawiono na rysunku 28. Ogólna zawartość związków fenolowych i antocyjanów ma bezpośredni związek z właściwościami przeciwutleniającymi (Nawirska i in., 2007). Stąd też istotnie wyższą aktywność przeciwrodnikową (około 17%) wśród przebadanych ekstraktów z wyłoków aronii wykazała próbka WN (38,9 mM troloxu/100 g s.m. ekstraktu).



Objaśnienia: a, b – wartości średnie oznaczone różnymi literami różnią się statystycznie istotnie ($p < 0,05$).

Rysunek 28. Aktywność przeciwutleniająca w ekstraktach z wyłoków aronii uzyskanych w wyniku ekstrakcji 80-procentowym roztworem alkoholu etylowego odmiany Nero (WN) i Galicjanka (WG)

Źródło: Opracowanie własne.

Przeprowadzona analiza statystyczna pozwoliła stwierdzić, że badane ekstrakty różniły się od siebie istotnie statystycznie aktywnością przeciwutleniającą. W dostępnej literaturze stosunkowo niewiele jest danych dotyczących właściwości przeciwutleniających wyłoków aronii powstających w procesie tłoczenia owoców. Można zatem przypuszczać, że potencjał przeciwutleniający wyłoków aronii nie jest jeszcze wystarczająco dobrze poznany.

Przeprowadzone badania wykonywano pod kątem wstępnej oceny właściwości przeciwutleniających uzyskanych ekstraktów z dwóch odmian wyłoków aronii w celu wyodrębnienia do kolejnych etapów badań tylko jednej odmiany. Na podstawie uzyskanych wyników stwierdzono, że do kolejnych etapów badań zostaną wykorzystane wyłoki aronii odmiany Nero (WN), ponieważ dla tej odmiany stwierdzono wyższą ogólną zawartość związków fenolowych, ogólną za-

wartość antocyjanów oraz silniejsze właściwości przeciwutleniające zmierzone przy użyciu testu z rodnikiem DPPH w porównaniu do wyciągów aronii odmiany Galicjanka.

5.3. Optymalizacja procesu ekstrakcji wyciągów aronii

Wyniki rozdziału 5.3 obejmują fragment publikacji Sady i in. (2019). Wyniki te stanowiły podstawę do realizacji badań związanych z otrzymywaniem ekstraktu o wysokich właściwościach przeciwutleniających.

Optymalizację procesu ekstrakcji w celu otrzymywania ekstraktu o wysokich właściwościach przeciwutleniających z wyciągów aronii odmiany Nero przeprowadzono na podstawie zastosowanego planowania doświadczeń metodą powierzchni odpowiedzi (RSM). W przeprowadzonym doświadczeniu stężenie alkoholu etylowego w zakresie 60–96% przypisano do czynnika X_1 , natomiast czas sonikacji w zakresie od 10 do 30 min stanowił odpowiednio czynnik X_2 . Czynniki X_1 i X_2 określono w eksperymencie jako zmienne niezależne i zbadano ich wpływ na ogólną zawartość związków fenolowych (TPC), ogólną zawartość antocyjanów (TAC) oraz właściwości przeciwrodnikowe (DPPH), które stanowiły funkcje odpowiedzi dla tych czynników. Zmienne niezależne oraz ich zakodowane i rzeczywiste wartości przedstawiono w podrozdziale „Optymalizacja procesu ekstrakcji” w tabeli 6. Układy etanolowe i wodno-etanolowe są często stosowane jako rozpuszczalnik do ekstrakcji związków fenolowych, również z aronii, ze względu na umiarkowaną polarność, niską toksyczność, wysoką efektywność ekstrakcji i minimalny szkodliwy wpływ na ludzi i środowisko (Simić i in., 2016). Wyniki badań Thi i Hwang (2014) wykazały, że w ekstraktach etanolowych stwierdzono znacznie wyższą aktywność związków polifenolowych w porównaniu z ekstraktami wodnymi. Z kolei za pomocą ultradźwięków można przeprowadzić pełne ekstrakcje w ciągu kilku minut, osiągając wysoką powtarzalność, zmniejszając zużycie rozpuszczalnika, upraszczając manipulację i obróbkę, zapewniając wyższą czystość produktu końcowego, eliminując dalsze oczyszczanie i zużywając niewielką ilość energii (Giacometti i in., 2018; Romanik i in., 2007; Zhou i in., 2017). Yolmeş i in. (2014) na podstawie przeprowadzonych badań stwierdzili, że ekstrakcja wspomaganą ultradźwiękami to skuteczna technika dla ekstrakcji naturalnych barwników w porównaniu z konwencjonalnymi metodami ekstrakcji. Zaletami tej techniki pod względem ilościowym i jakościowym są: krótszy czas ekstrakcji, mniejsza degradacja barwników oraz uzyskanie intensywnej barwy.

Na podstawie opracowanych założeń eksperymentu przy użyciu programu statystycznego wyznaczono plan kompozycyjny, który obejmował przygotowanie 10 ekstraktów. Próbkę przygotowano zgodnie z opracowanym planem kompo-

zycyjnym (tabela 11). Podczas nadźwiękawiania próbek monitorowano wielkość wniesionej energii do próbki oraz obliczono pochodne wielkości energetyczne pola ultradźwiękowego. Zmiany wielkości energetycznych nadźwiękawiania próbek ekstraktów z wyłoków aronii przedstawiono w tabeli 10. Moc akustyczna w przeprowadzonych badaniach w zależności od stężenia alkoholu etylowego i czasu nadźwiękawiania zmieniała się w zakresie od 2,6 W (65% i 27 min) do 17,6 W (78% i 10 min). Znając wielkość energii i mocy akustycznej, jak również objętości nadźwiękawianych ekstraktów, możliwe było określenie gęstości mocy i gęstości energii. Parametry te zostały zastosowane podczas optymalizacji procesów sonikacji. Największą wartość gęstości energii ($251\,700\text{ J/dm}^3$) i gęstości mocy ($290,5\text{ W/dm}^3$) stwierdzono podczas 20-minutowego nadźwiękawiania ekstraktów przy stężeniu 60% alkoholu etylowego (tabela 10).

Tabela 10. Wielkości energetyczne nadźwiękawiania ekstraktów z wyłoków aronii odmiany Nero (WN)

Odkodowane poziomy czynniki		Parametry					
X_1	X_2	t	N	E_s	W_e	W_m	I
60	20	1200	10,5	12585	251700	290,5	2,7
78	20	1200	6,7	8063	161267	134,4	1,3
78	20	1200	6,8	8137	162740	135,6	1,3
65	27	1620	2,6	4144	82873	51,2	0,5
78	10	600	17,6	10570	211393	352,3	3,3
65	13	780	6,6	5158	103153	132,2	1,2
96	20	1200	6,2	7459	149180	124,3	1,2
90	27	1620	5,2	8404	168073	103,7	1,0
78	30	1800	3,0	5354	107080	59,5	0,6
90	13	780	14,5	11328	226567	209,8	2,0

Objaśnienia: t – czas sonikacji (s), N – moc akustyczna (W), E_s – energia sonikacji (J), W_e – gęstość energii (J/dm^3), W_m – gęstość mocy (W/dm^3), I – natężenie fali akustycznej (W/cm^2).

Źródło: Opracowanie własne.

Proces nadźwiękawiania opisuje się również za pomocą natężenia. Jest to miarodajny parametr określający ilość energii przenoszonej przez falę akustyczną i docierającej do powierzchni ośrodka prostopadłej do kierunku rozchodzenia się fali. Przyjmuje się, że aby doszło do wywołania kawitacji w ciekłym ośrodku, natężenie fali ultradźwiękowej nie może być niższe niż $1,0\text{ W/cm}^2$ (Kwarciać-Kozłowska i Sławik-Dembiczak, 2016). Stwierdzono, że tylko podczas sonikacji ekstraktów otrzymanych przy użyciu 65-procentowego alkoholu etylowego i w czasie ekstrakcji wynoszącym 27 minut oraz 78-procentowego alkoholu etylowego w 30-minutowej ekstrakcji natężenie fali ultradźwiękowej było

niższe od teoretycznego progu do wywołania kawitacji i wynosiło odpowiednio $0,5 \text{ W/m}^2$ i $0,6 \text{ W/cm}^2$. Najwyższą wielkość natężenia fali ultradźwiękowej ($3,3 \text{ W/cm}^2$) zaobserwowano podczas 10-minutowej sonikacji (tabela 10).

Dla przygotowanych ekstraktów wykonano analizy empiryczne, a następnie przeprowadzono ocenę wpływu wybranych czynników (X_1 i X_2) na ogólną zawartość związków fenolowych, ogólną zawartość antocyjanów oraz właściwości przeciwrodnikowe w ekstraktach z wyłoków aronii. Schemat przeprowadzonego eksperymentu i uzyskane wyniki jako średnie z trzech powtórzeń przedstawiono w tabeli 11. Ogólna zawartość związków fenolowych w badanych próbkach była na poziomie $95,9\text{--}188,5 \text{ mg GAE/g s.m. ekstraktu}$, ogólna zawartość antocyjanów oscylowała na poziomie $68,7\text{--}89,3 \text{ mg C3GE/g s.m. ekstraktu}$, natomiast aktywność przeciwrodnikowa została zmierzona w zakresie $26,3\text{--}49,2 \text{ mM Tr/100 g s.m. ekstraktu}$. Spośród analizowanych ekstraktów najwyższą ogólną zawartość związków fenolowych i właściwości przeciwutleniające zmierzone przy użyciu testu z rodnikiem DPPH oznaczono w próbkach ekstraktu przy użyciu 60-procentowego roztworu alkoholu etylowego podczas 20-minutowej sonikacji, natomiast najwyższą ogólną zawartość antocyjanów stwierdzono w próbkach ekstraktu przy użyciu 65-procentowego roztworu alkoholu etylowego podczas 13-minutowej sonikacji. Najniższe wartości TPC, TAC i DPPH zostały określone przy zastosowaniu 96-procentowego roztworu alkoholu etylowego podczas 20-minutowej sonikacji. Cvetković i in. (2018) udowodnili, że warunki ekstrakcji, takie jak rodzaj i stężenie rozpuszczalników, czas reakcji oraz temperatura, miały znaczący wpływ na poziom ogólnej zawartości związków fenolowych i aktywność przeciwutleniającą w liściach aronii. Z kolei Simić i in. (2016) wykorzystali RSM do określenia optymalnych parametrów dla osiągnięcia maksymalnej ogólnej zawartości związków fenolowych z całych owoców aronii i stwierdzili, że optymalny czas ekstrakcji i stężenie alkoholu etylowego wynosiły odpowiednio 15 minut i 53,8%. W różnych badaniach dotyczących osiągnięcia najwyższej efektywności ekstrakcji z komercyjnie mrożonych owoców aronii optymalne parametry, takie jak czas ekstrakcji i stężenie alkoholu etylowego, wynosiły odpowiednio: 15 minut i 62,5% (Simić i in., 2018). Y.Y. Xu i in. (2017) również badali proces optymalizacji ekstrakcji wspomaganą ultradźwiękami dwufazowego układu rozpuszczalników (wody i alkoholu etylowego) w celu uzyskania wysokiej ogólnej zawartości związków fenolowych w wyłokach aronii. Autorzy zidentyfikowali optymalne parametry za pomocą RSM na poziomie 69-procentowego roztworu alkoholu etylowego (z zakresu 60%–80%) podczas 50-minutowej sonikacji (z zakresu 40–60 minut), co pozwoliło na wyekstrahowanie związków fenolowych ogółem na poziomie $68,15 \text{ mg GAE/g}$. W badaniu N. Gao i in. (2016) optymalne stężenie alkoholu etylowego przy zastosowaniu ekstrakcji ultradźwiękowej dla ekstraktów pulpy aronii wyniosło 56%. Według S. Chen i in. (2018) optymalne warunki

ekstrakcji wspomaganej ultradźwiękami dla określenia ogólnej zawartości antocyjanów w aronii to stężenie 62-procentowego alkoholu etylowego podczas 44-minutowego nadźwiękawiania próbki. W tych warunkach (moc ultradźwiękowa 198 W i stosunek ciecz–ciało stałe 19 cm³/g) autorzy uzyskali 4,319 mg C3GE/g antocyjanów (Chen, 2018). Porównując otrzymane w doświadczeniu optymalne parametry z wynikami badań opublikowanych w powyższych pracach, można stwierdzić, że uzyskane stężenie na poziomie 60-procentowego alkoholu etylowego podczas 20-minutowego nadźwiękawiania próbki wpisuje się w większości w obserwacje innych autorów.

W przeprowadzonym doświadczeniu określono modele regresji w postaci równań wielomianowych drugiego stopnia dla wartości TPC (Y_1), TAC (Y_2), DPPH (Y_3) (tabela 12). Modele odpowiedzi dobrze opisały zmienność analizowanego zjawiska – wyjaśniły od niemal 89% do niemal 99% zmienności. Modele charakteryzowały się dobrym dopasowaniem, na co wskazuje wysoka wartość współczynnika determinacji R^2 . W przypadku TPC i DPPH wartości R^2 były bliskie 1 i wynosiły odpowiednio 0,984 i 0,988. Nieistotna statystycznie wartość braku dopasowania dla TPC i DPPH wskazuje, że modele regresji dobrze korespondowały z danymi eksperymentalnymi. W przypadku TAC wartość braku dopasowania jest istotna statystycznie, ale również ten model charakteryzuje się wysokimi wartościami współczynnika determinacji i skorygowanego współczynnika determinacji ($R^2 = 0,888$; $R^2_a = 0,747$). Według Joglekar i May (1987) R^2 powyżej 0,800 dobrze dopasowuje model odpowiedzi. Z uwagi na to, że wartości R^2 dla zmiennych odpowiedzi były wyższe niż 0,800, modele regresji były odpowiednio do wyjaśnienia ich zachowania.

Modele matematyczne w postaci równań wielomianowych drugiego stopnia zastosowane do opisu uzyskanych wyników były istotne statystycznie na poziomie $p < 0,0001$. W przypadku oznaczenia testem DPPH żadna z reszt nie przekroczyła 4% wartości eksperymentalnych, podczas gdy średni bezwzględny błąd procentowy (MAPE) wyniósł 1,8%. Dla TPC MAPE wyniósł 2,2%, przy czym największa różnica między modelem a danymi eksperymentalnymi była związana z wysokimi (ponad 90-procentowymi) stężeniami alkoholu etylowego. W przypadku TAC MAPE wyniósł 1,9%. Odpowiednio dobre dopasowanie można ocenić dla Y_1 , Y_3 , dla których istnieje wysoka zgodność modelu empirycznego z rzeczywistymi danymi. Analiza statystyczna wykazała, że wśród ocenianych zmiennych stężenie alkoholu etylowego (X_1 , $p = 0,014$, $p = 0,014$ i $p = 0,029$) miało znaczący wpływ na ogólną zawartość związków fenolowych, ogólną zawartość antocyjanów oraz właściwości przeciwdrobnikowe, podczas gdy czas sonikacji w analizie wariancji nie różnicował istotnie poziomu tych odpowiedzi (tabela 13). Jednocześnie dla zastosowanego czasu sonikacji znaczący był brak dopasowania, co oznacza, że wyniki w tym przypadku nie są jednoznaczne.

Tabela 11. Plan kompozycyjny z eksperymentalnymi i przewidywanymi wartościami dla ogólnej zawartości związków fenolowych (TPC), ogólnej zawartości antocyanów (TAC) oraz właściwości przeciwrodnikowych (DPPH) ekstraktów z wytlóków aronii odmiany Nero (WN)

Kolejność doświadczeń*	Kolejność doświadczeń**	Zakodowane i odkodowane poziomy czynniki		Odpowiedź Y_1		Odpowiedź Y_2		Odpowiedź Y_3		
		X_1	X_2	TPC (mg GAE/g s.m.)	WP	TAC (mg C3GE/g s.m.)	WP	DPPH (mM Tr/100 g s.m.)	WE	WP
1	5	-1,41	0	188,5 ± 0,4	184,2	88,3 ± 1,4	86,4	49,2 ± 1,0		48,2
2	10 (C)	0	0	137,8 ± 0,1	139,3	86,7 ± 1,3	86,7	37,9 ± 1,2		38,6
3	9 (C)	0	0	140,4 ± 0,4	139,3	86,3 ± 0,1	86,7	39,9 ± 0,9		38,6
4	2	-1	1	157,7 ± 1,2	163,1	85,1 ± 0,5	85,7	44,4 ± 1,9		44,9
5	7	0	-1,41	144,5 ± 1,7	148,0	87,9 ± 0,4	88,3	39,9 ± 1,5		39,6
6	1	-1	-1	181,7 ± 1,7	182,2	89,3 ± 0,8	90,7	46,1 ± 1,5		47,1
7	6	1,41	0	95,9 ± 0,9	99,6	68,7 ± 0,8	72,1	26,3 ± 0,1		27,2
8	4	1	1	114,8 ± 0,7	114,6	82,7 ± 1,1	79,5	33,1 ± 0,9		32,1
9	8	0	1,41	140,0 ± 3,1	136,3	84,4 ± 0,3	85,9	38,6 ± 0,7		38,9
10	3	1	-1	118,2 ± 5,2	112,7	80,6 ± 0,5	78,1	31,5 ± 0,1		31,0

Objaśnienia: * kolejność nierandomizowana, ** kolejność randomizowana, WE – wartości eksperymentalne, WP – wartości przewidywane. Wartości eksperymentalne przedstawiono jako średnia ± odchylenie standardowe.

Źródło: Opracowanie własne.

Tabela 12. Dopasowany model kwadratowy pod względem zakodowanych zmiennych dla ogólnej zawartości związków fenolowych (TPC), ogólnej zawartości antocyjanów (TAC) oraz właściwości przeciwrodnikowych (DPPH) ekstraktów z wytlóków aronii odmiany Nero (WN)

Odpowiedź	Równanie wielomianowe drugiego stopnia	Regresja (p-wartość)	R^2	R^2_a
Y_1	$488,75 - 481,89X_1 + 81,35X_1^2 - 6,41X_2 + 0,029X_2^2 + 6,00X_1X_2$	0,0001	0,984	0,964
Y_2	$9\ 804,21 + 282,718X_1 - 229,651X_1^2 - 1,66X_2 + 0,004X_2^2 + 1,782X_1X_2$	0,0001	0,888	0,747
Y_3	$84,29 - 32,30X_1 - 28,43X_1^2 - 1,009X_2 + 0,006X_2^2 + 0,929X_1X_2$	0,0001	0,988	0,973

Objaśnienia: Y_1 – TPC, Y_2 – TAC, Y_3 – DPPH, R^2 – współczynnik determinacji, R^2_a – skorygowany współczynnik determinacji.

Źródło: Opracowanie własne.

Sporządzone trójwymiarowe wykresy powierzchni odpowiedzi dla oznaczonych wielkości pokazują interaktywny wpływ stężenia alkoholu etylowego i czasu sonikacji na ogólną zawartość związków fenolowych, ogólną zawartość antocyjanów i właściwości przeciwrodnikowe (rysunek 29). Kształt powierzchni odpowiedzi wskazuje, że w każdym z analizowanych przypadków najważniejszym czynnikiem było stężenie alkoholu etylowego. Im niższe było stężenie alkoholu etylowego, tym wyższa była efektywność ekstrakcji. Odnosząc się szczególnie do rysunków A i C, można zaobserwować, że czas sonikacji nie wpływał na właściwości ekstraktów lub wpływał na nie w nieistotny sposób.

W celu zweryfikowania stopnia zdolności prognostycznej metodologii powierzchni odpowiedzi na wiarygodność zaprojektowanego doświadczenia przeprowadzono walidację modelu dla pięciu stężeń alkoholu etylowego: 50%, 55%, 60%, 62% i 75% podczas 20 minut sonikacji (tabela 14). Walidacja modelu na dwóch poziomach (62% i 75%) wykazała, że model dobrze odpowiada danym eksperymentalnym, ponieważ został zweryfikowany z błędem mniejszym niż 10%. W przypadku odchyłań wartości przewidywanych w porównaniu z wartościami eksperymentalnymi dla ogólnej zawartości antocyjanów wynosiły około 1%, podczas gdy w przypadku ogólnej zawartości związków fenolowych i aktywności przeciwrodnikowej były w zakresie 1–6%. Takie wyniki można uznać za zadowalające. Mając na uwadze, że optymalne parametry modelu były zbliżone do dolnej granicy badanych stężeń alkoholu etylowego, sprawdzono, czy model działa również dla stężeń poniżej 60%. W przypadku 50-procentowego i 55-procentowego alkoholu etylowego przewidywane dane odbiegały od danych eksperymentalnych o ponad 45% dla ogólnej zawartości związków fenolowych, 35%–40% dla właściwości przeciwrodnikowych zmierzonych testem DPPH

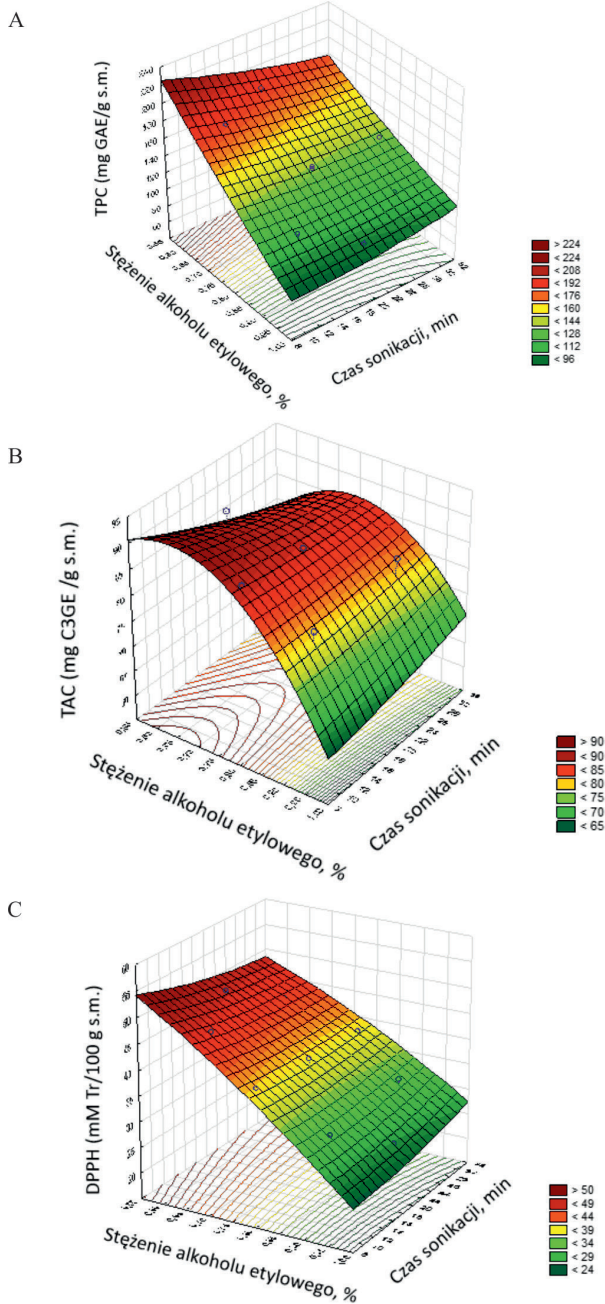
Tabela 13. Analiza wariancji (ANOVA) wyników nieredukowanego modelu kwadratowego

Wyszczególnienie	TPC					TAC					DPPH				
	SS	DF	MS	F	p	SS	DF	MS	F	p	SS	DF	MS	F	p
Model	7339,85	5	1467,97	48,68	<0,001	258,01	5	51,602	7,09	0,027	429,21	5	85,84	63,93	<0,001
A	7063,86	1	7063,86	2028,38	0,014	179,24	1	179,24	2022,17	0,014	424,64	1	424,64	1,08	0,029
B	148,63	1	148,63	42,68	0,097	6,68	1	6,68	75,41	0,073	0,53	1	0,53	0,60	0,581
A ²	7,79	1	7,79	2,24	0,375	62,01	1	62,01	699,55	0,024	0,95	1	0,95	1,08	0,488
B ²	9,16	1	9,16	2,63	0,352	0,18	1	0,18	2,03	0,39	0,45	1	0,45	0,51	0,605
A*B	110,41	1	110,41	31,71	0,112	9,90	1	9,90	111,68	0,060	2,64	1	2,64	2,99	0,334
Reszta	120,61	4	30,15			36,35	4	9,09			5,37	4	1,34		
Brak dopasowania	117,13	3	39,04	11,21	0,215	36,26	3	12,08	136,35	0,063	4,49	3	1,50	1,70	0,501
Czysty błąd	3,48	1	3,48			0,09	1	0,09			0,88	1	0,88		
Całkowity błąd	7443,19	9				323,14	9				438,55	9			

Objaśnienia: A – stężenie alkoholu etylowego, B – czas sonikacji, SS – suma kwadratów,

DF – stopnie swobody, MS – średni kwadrat, F – wartość F, p – wartość p.

Źródło: Opracowanie własne.



Rysunek 29. Wpływ stężenia alkoholu etylowego i czasu sonikacji na (A) ogólną zawartość związków fenolowych (TPC), (B) ogólną zawartość antocyanów (TAC), (C) właściwości przeciwrodnikowe (DPPH) w ekstraktach z wytłoków aronii odmiany Nero (WN)

Źródło: Opracowanie własne.

i 1%–7% dla ogólnej zawartości antocyjanów. Jednocześnie oznaczone wartości dla stężeń alkoholu etylowego poniżej analizowanego zakresu (60%–96%) były wyraźnie niższe (o 15% dla związków fenolowych ogółem, o 11% dla DPPH i o 2% dla antocyjanów ogółem) niż wyniki uzyskane dla optymalnego poziomu stężenia alkoholu etylowego (60%).

Tabela 14. Walidacja zoptymalizowanego modelu

Odkodowane poziomy czynniki		Odpowiedź Y_1 TPC (mg GAE/g s.m.)		Odpowiedź Y_2 TAC (mg C3GE/g s.m.)		Odpowiedź Y_3 DPPH (mM Tr/100 g s.m.)	
X_1	X_2	<i>WE</i>	<i>WP</i>	<i>WE</i>	<i>WP</i>	<i>WE</i>	<i>WP</i>
60	20	186,9 ± 1,1	183,5	87,9 ± 1,2	86,2	48,8 ± 0,9	48,1
62	20	183,9 ± 1,5	179,0	88,6 ± 1,3	87,3	47,6 ± 1,2	47,1
75	20	155,3 ± 2,4	146,5	87,1 ± 0,9	87,8	42,9 ± 0,7	40,2
55	20	134,4 ± 2,8	197,7	84,8 ± 2,2	83,8	37,2 ± 1,8	50,4
50	20	136,0 ± 2,6	211,5	85,5 ± 1,7	80,0	37,5 ± 0,5	52,5

Objaśnienia: *WE* – wartości eksperymentalne, *WP* – wartości przewidywane.
Wartości eksperymentalne przedstawiono jako średnia ± odchylenie standardowe.

Źródło: Opracowanie własne.

Na podstawie uzyskanych wyników z przeprowadzonej walidacji zoptymalizowanego modelu można stwierdzić, że optymalne warunki ekstrakcji związków bioaktywnych wyrażonych jako TPC i DPPH z wyłoków aronii to użycie 60-procentowego roztworu alkoholu etylowego podczas 20-minutowej sonikacji.

Po raz pierwszy dla wyłoków aronii przeprowadzono eksperyment na podstawie zastosowanego planowania doświadczeń metodą płaszczyzny odpowiedzi z dwoma czynnikami (stężenie alkoholu etylowego i czas sonikacji) z oznaczeniami ogólnej zawartości związków fenolowych, ogólnej zawartości antocyjanów i właściwości przeciwutleniających zmierzonych testem przy użyciu rodnika DPPH jako wartościami odpowiedzi. N. Gao i in. (2016) i S. Chen i in. (2018) użyli tylko dwóch wartości odpowiedzi, tj. odpowiednio ogólnej zawartości związków fenolowych i ogólnej zawartości antocyjanów, natomiast Y.Y. Xu i in. (2017) w RSM zastosowali jako wartości odpowiedzi tylko ogólną zawartość związków fenolowych i zawartość flawonoidów. Co więcej, w przeprowadzonym eksperymencie zastosowano liofilizowane wyłoki zamiast całych mrożonych jagód (S. Chen i in., 2018; N. Gao i in., 2016) lub suszonych na powietrzu (Y.Y. Xu i in., 2017), badanie przeprowadzono w temperaturze pokojowej, zapewniając stabilność substancji bioaktywnych, a walidacja uzyskanego modelu została wykonana z błędem mniejszym niż 10%.

Na podstawie otrzymanych wyników badań można stwierdzić, że zastosowane zaprojektowanie eksperymentu metodą płaszczyzny odpowiedzi RSM do

optymalizacji procesu ekstrakcji z wyłoków aronii przy użyciu alkoholu etylowego i techniki ultradźwiękowej pozwoliło określić wpływ poszczególnych parametrów procesu na ogólną zawartość związków fenolowych, ogólną zawartość antocyjanów i właściwości przeciwutleniające. W przeprowadzonym badaniu zaobserwowano, że pole ultradźwiękowe w procesie sonikacji przy odpowiednim stężeniu alkoholu etylowego wpływa na ilość substancji bioaktywnych zawartych w ekstraktach. Uwalnia je do fazy ciekłej, co prowadzi do wzrostu poszczególnych związków. Uzyskane matematyczne modele pozwalają na optymalizację parametrów procesowych i mogą posłużyć do opracowania podstaw technologicznych dla procesu przemysłowego jako wydajnej, opłacalnej oraz przyjaznej dla środowiska technologii izolowania związków biologicznie czynnych o właściwościach przeciwutleniających z wyłoków aronii.

5.4. Rozdział frakcyjny ekstraktów z wyłoków aronii oraz ocena właściwości przeciwutleniających uzyskanych frakcji

Składniki zawarte w ekstraktach zawierają różnorodne naturalne metabolity, które wymagają dalszego rozdzielania i oczyszczania w celu uzyskania frakcji aktywnych lub wybranych substancji bioaktywnych (Q.W. Zhang i in., 2018). Do rozdzielania związków organicznych zawartych w ekstraktach z wyłoków aronii, przygotowanych według optymalnych parametrów (stężenie alkoholu etylowego 60% i 20-minutowy czas sonikacji), zastosowano kolumny o dwóch różnych typach złożeń: LiChroprep i poliamidowe. LiChroprep jest rodzajem żelu krzemionkowego najczęściej stosowanym w rozdzielaniu substancji fitochemicznych. Oszacowano, że prawie 90% rozdziału fitochemicznego w skali preparatywnej w literaturze odbywało się na żelu krzemionkowym (Q.W. Zhang i in., 2018). Żel krzemionkowy jest polarnym adsorbentem z grupami hydroksylowymi. Cząsteczki są zatrzymywane przez żel krzemionkowy poprzez wiązania wodorowe i interakcje dipol-dipol. Poprzez silniejsze oddziaływania polarne produkty naturalne są zatrzymywane dłużej w kolumnach z żelem krzemionkowym niż niepolarne.

W chromatografii kolumnowej z poliamidem zachodzi oddziaływanie hydrofobowe i (lub) wiązanie wodorowe w zależności od składu fazy ruchomej. Gdy jako fazę ruchomą stosuje się rozpuszczalniki polarne, poliamidy działają jako niepolarna faza stacjonarna, a zachowanie chromatograficzne jest podobne do chromatografii w układzie faz odwróconych. Natomiast w obecności rozpuszczalników niepolarnych poliamidy działają jak polarna faza stacjonarna, a zachowanie chromatograficzne jest podobne do chromatografii normalnej fazy (Q.W. Zhang i in., 2018). Chromatografia kolumnowa ze złożem poliamidowym

jest konwencjonalnym narzędziem do rozdzielania naturalnych polifenoli, których mechanizmy przypisuje się tworzeniu wiązania wodorowego między adsorbentami poliamidowymi, fazą ruchomą i związkami docelowymi (Shu i in., 2013). Wyboru złożeń dokonano na podstawie analizy literatury naukowej, z której wynika, że wielokrotne filtrowanie naniesionych ekstraktów na złożach LiChroprep i poliamidowym przy użyciu odpowiednich proporcji między ilością ekstraktu, ilością sorbentu oraz objętością eluentu o różnym stężeniu pozwoli na zróżnicowane wyodrębnianie z badanego ekstraktu poszczególnych frakcji zawierających różne grupy związków organicznych, takich jak cukry i polifenole (Collins i in., 1998; Ioset i in., 2011; Shu i in., 2013; Q.W. Zhang i in., 2018).

W celu wyodrębniania frakcji zawierającej polifenole z badanych ekstraktów opracowano procedurę izolacji tych związków z wytlóków aronii. Stosując różną procentową zawartość alkoholu etylowego w wodzie, rozdzielono ekstrakty z wytlóków aronii, uzyskanych w wyniku ekstrakcji 60-procentowym roztworem alkoholu etylowego w czasie 20-minutowej sonikacji, na cztery frakcje: F1 – wodna, F2 – 40-procentowy alkohol etylowy, F3 – 80-procentowy alkohol etylowy i F4 – 96-procentowy alkohol etylowy. Struktura procentowa frakcji otrzymanych po wyizolowaniu na złożu LiChroprep kształtowała się następująco: 80,2% (F1), 9,4% (F2), 8,9% (F3) i 1,5% (F4), natomiast na złożu poliamidowym – 76,7% (F1), 15,0% (F2), 6,9% (F3) i 1,4% (F4).

Otrzymane frakcje poddano analizie w kierunku ogólnej zawartości związków fenolowych, ogólnej zawartości antocyjanów i właściwości przeciwutleniających zmierzonych przy użyciu testu z rodnikiem DPPH (tabela 15). Wśród badanych frakcji wyizolowanych na złożu LiChroprep ogólna zawartość związków fenolowych kształtowała się na poziomie od 50,6 do 683,4 mg GAE/g s.m. frakcji, antocyjanów – od 0,3 do 262,9 mg C3GE/g s.m. frakcji, natomiast aktywność przeciworodnikowa – od 3,4 do 346,5 mM Tr/100 g s.m. frakcji. Z kolei dla frakcji otrzymanych na złożu poliamidowym odnotowano ogólną zawartość związków fenolowych od 69,5 do 706,5 mg GAE/g s.m. frakcji, ogólną zawartość antocyjanów od 6,8 do 433,3 mg C3GE/g s.m. frakcji oraz aktywność przeciworodnikową od 1,5 do 451,1 mM Tr/100 g s.m. frakcji.

Ogólna zawartość związków fenolowych, ogólna zawartość antocyjanów i właściwości przeciwutleniających przy użyciu testu z rodnikiem DPPH były najwyższe dla frakcji 2 wmywanej 40-procentowym alkoholem etylowym na obydwóch złożach, przy czym najwyższe zawartości tych związków odnotowano dla frakcji 2 wyizolowanej na złożu poliamidowym. Ogólna zawartość związków fenolowych we frakcji 2 wyizolowanej na złożu poliamidowym była około 3% wyższa w porównaniu z frakcją 2 wyizolowaną na złożu LiChroprep. W przypadku ogólnej zawartości antocyjanów wartość 433,3 mg C3GE/g s.m. oznaczona we frakcji 2 wyizolowanej na złożu poliamidowym była o około 65% wyższa niż wartość uzyskana we frakcji 2 przy zastosowaniu złoża LiChro-

prep (262,9 mg C3GE/g s.m. frakcji). Natomiast właściwości przeciwrodnikowe były wyższe o ponad 30% dla frakcji 2 wyizolowanej na złożu poliamidowym w porównaniu z frakcją 2 wyizolowaną na złożu LiChrorep.

Tabela 15. Ogólna zawartość związków fenolowych (TPC), ogólna zawartość antocyjanów (TAC) i aktywność przeciwrodnikowa (DPPH) w wyizolowanych frakcjach ekstraktów z wytloków aronii odmiany Nero (WN) uzyskanych w wyniku ekstrakcji 60-procentowym roztworem alkoholu etylowego podczas 20-minutowej sonikacji na złożach LiChrorep i poliamidowym

Oznaczenie	F1		F2		F3		F4	
	<i>L</i>	<i>P</i>	<i>L</i>	<i>P</i>	<i>L</i>	<i>P</i>	<i>L</i>	<i>P</i>
TPC (mg GAE/g s.m. frakcji)	161,1 ± 5,3	229,8 ± 1,4	683,4 ± 4,6	706,5 ± 0,8	170,0 ± 5,8	119,9 ± 1,8	50,6 ± 1,6	69,5 ± 1,1
TAC (mg C3GE/g s.m. frakcji)	61,9 ± 2,0	96,1 ± 2,2	262,9 ± 2,3	433,3 ± 7,7	2,9 ± 0,3	33,1 ± 0,5	0,3 ± 0,5	6,8 ± 0,9
DPPH (mM Tr/100 g s.m. frakcji)	99,0 ± 4,4	55,1 ± 2,9	346,5 ± 23,3	451,1 ± 11,7	36,8 ± 1,1	23,9 ± 0,3	3,4 ± 0,3	1,5 ± 0,3

Objaśnienia: *L* – frakcja wyizolowana na złożu LiChrorep, *P* – frakcja wyizolowana na złożu poliamidowym.

Wartości przedstawiono jako średnia ± odchylenie standardowe.

Źródło: Opracowanie własne.

Wszystkie otrzymane wyniki badań poddano analizie wieloczynnikowej ANOVA. Za zmienną zależną przyjęto odpowiednio poziom ogólnej zawartości związków fenolowych, ogólnej zawartości antocyjanów i aktywność przeciwrodnikową, a za predyktory jakościowe rodzaj frakcji i rodzaj złoża. Dla analizy przyjęto poziom istotności $\alpha = 0,05$. Sprawdzono wpływ zarówno wyizolowanej frakcji, jak i zastosowanego złoża na zawartość oznaczanych grup związków. Oceniono również, czy między czynnikami „rodzaj frakcji” i „rodzaj złoża” występuje wzajemne oddziaływanie zwane interakcją. Oddziaływanie to oznacza, w jakim stopniu poziom jednego czynnika zależy od poziomu drugiego czynnika. Na podstawie analizy wariancji stwierdzono, że rodzaj frakcji miał istotny wpływ na kształtowanie poziomu ogólnej zawartości związków fenolowych ($F = 84,4$; $p < 0,001$), ogólnej zawartości antocyjanów ($F = 2207,1$; $p < 0,001$) i aktywności przeciwrodnikowej ($F = 8,9$; $p < 0,001$). Ponadto stwierdzono, że rodzaj zastosowanego złoża do izolacji był parametrem istotnie warunkującym wyznaczony poziom ogólnej zawartości związków fenolowych ($F = 30208,2$; $p < 0,001$), ogólnej zawartości antocyjanów ($F = 16877,8$; $p < 0,001$) i aktywności przeciwrodnikowej ($F = 2292,3$; $p < 0,001$). Dodatkowo analiza statystyczna obu parametrów łącznie wykazała, że zarówno rodzaj frakcji, jak i rodzaj złoża oraz ich kombinacje warunkują poziom oznaczanych grup związków (tabela 16). Na podstawie oczekiwanych średnich brzegowych

i oszacowanych 95% przedziałów ufności stwierdzono, że najwyższy poziom we wszystkich przeprowadzonych oznaczeniach wykazała frakcja 2 wyizolowana na złożu poliamidowym (tabela 16, rysunek 30).

Tabela 16. Wielkości efektów głównych dla wieloczynnikowej analizy wariancji

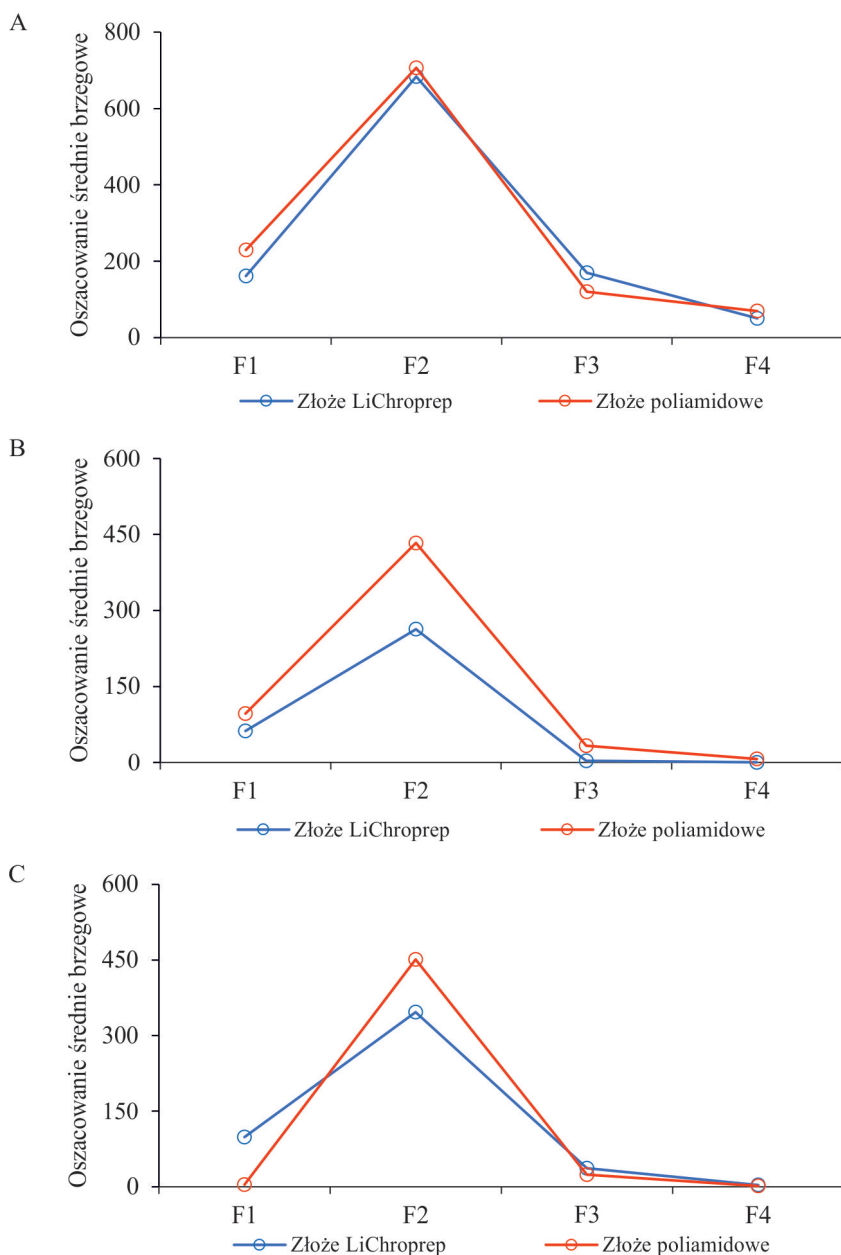
Efekt	Jednowymiarowe testy istotności dla zawartości związków polifenolowych ogółem				
	<i>SS</i>	<i>DF</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>p</i>
Wyraz wolny	1799931,9	1	1799931,9	110601,2	<0,001
Frakcja	1373,5	1	1373,5	84,4	<0,001
Złoże	1474829,0	3	491609,7	30208,2	<0,001
Frakcja*Złoże	10799,2	3	3599,7	221,2	<0,001
Niepewność	260,4	16	16,3		
	Jednowymiarowe testy istotności dla zawartości antocyjanów ogółem				
	<i>SS</i>	<i>DF</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>p</i>
Wyraz wolny	345067,8	1	345067,8	30536,8	<0,001
Frakcja	24940,7	1	24940,7	2207,1	<0,001
Złoże	572160,9	3	190720,3	16877,8	<0,001
Frakcja*Złoże	31051,9	3	10350,6	916,0	<0,001
Niepewność	226,0	20	11,3		
	Jednowymiarowe testy istotności dla aktywności przeciwrodnikowej				
	<i>SS</i>	<i>DF</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>p</i>
Wyraz wolny	388080,3	1	388080,3	4393,3	<0,001
Frakcja	785,6	1	785,6	8,9	<0,001
Złoże	607464,4	3	202488,1	2292,3	<0,001
Frakcja*Złoże	18774,6	3	6258,2	70,8	<0,001
Niepewność	1413,3	16	88,3		

Objaśnienia: *SS* – suma kwadratów, *DF* – stopnie swobody, *MS* – średni kwadrat, *F* – wartość *F*, *p* – wartość *p*.

Źródło: Opracowanie własne.

M. Gao i in. (2011) badali zachowanie chromatograficzne polifenoli, w tym kwasów fenolowych i flawonoidów, na kolumnie zawierającej złożo poliamidowe. Autorzy stwierdzili, że liczba fenolowych grup hydroksylowych i ich pozycje w cząsteczce wpływały na siłę adsorpcji. W literaturze odnotowano również rozdział innych produktów naturalnych metodą chromatografii kolumnowej z poliamidem, takich jak saponiny i alkaloidy izochinolinowe (Yang i in., 2012; Q.W. Zhang i in., 2018).

Na podstawie otrzymanych wyników badań można stwierdzić, że opracowana metoda frakcjonowania ekstraktu z wytlóków aronii pozwala na otrzymanie frakcji o wysokiej koncentracji związków biologicznie czynnych o właściwo-



Rysunek 30. Oszacowane średnie brzegowe wpływu zastosowanych złożeń na (A) ogólną zawartość związków fenolowych, (B) ogólną zawartość antocyjanów, (C) aktywność przeciwnadrodnikową w zależności od wyizolowanej frakcji

Źródło: Opracowanie własne.

ściach przeciwutleniających. Wyniki badań wskazują, że frakcja 2 wyizolowana z ekstraktu z wyłoków aronii uzyskanego w wyniku ekstrakcji 60-procentowym roztworem alkoholu etylowego podczas 20-minutowej sonikacji na złożu poliamidowym charakteryzuje się najsilniejszym działaniem przeciwutleniającym. Wybór adsorbentów (fazy stacjonarnej) ma istotne znaczenie dla osiągnięcia dobrego rozdziału naturalnych produktów, maksymalizacji odzysku docelowych związków i uniknięcia nieodwracalnej adsorpcji docelowych związków na adsorbentach. Należy podkreślić, że otrzymywanie aktywnej frakcji przy użyciu złoża poliamidowego stanowiło korzystną alternatywę do złoża LiChroprep, ponieważ chromatografia kolumnowa ze złożem poliamidowym zapewniła bardziej ekonomiczny rozdział naturalnych metabolitów. Ponadto złożo poliamidowe jest ponad pięciokrotnie tańsze od złoża LiChroprep.

5.5. Wstępna analiza jakościowa otrzymanych frakcji ekstraktów z wyłoków aronii

Wstępną analizę dotyczącą identyfikacji związków organicznych zawartych w wyizolowanych frakcjach ekstraktów z wyłoków aronii na złożach LiChroprep i poliamidowym przeprowadzono w Instytucie Genetyki Roślin Polskiej Akademii Nauk w Poznaniu. Identyfikację poszczególnych związków określono na podstawie danych uzyskanych za pomocą dwóch metod instrumentalnych. Przy zastosowaniu rozdziału chromatograficznego HPLC-ESI-IT-MS uzyskano widma fragmentacyjne, widma EIC (*extracted ion current*) dla poszczególnych jonów pseudomolekularnych, czasy retencji oraz widma UV dla poszczególnych sygnałów. Z kolei dla wstępnego określenia składu elementarnego substancji zawartych we frakcjach zastosowano pomiar masy cząsteczkowej jonów z dokładnością do czwartego miejsca po przecinku za pomocą wysokorozdzielczego spektrometru mas z detektorem typu Orbitrap w ultrasprawnym chromatografie cieczowym.

Na podstawie widm masowych frakcji 1 wyizolowanej na złożu LiChroprep wstępnie zidentyfikowano 14 struktur metabolitów (załącznik 1). W trybie jonizacji ujemnej we frakcji 1 zaobserwowano siedem pików, które przypisano następującym jonom molekularnym $[M-H]^-$ przy m/z 353,0878 (**1**, t_R 12,7), 467,1178 (**2**, t_R 18,5), 625,1434 (**3**, t_R 23,0), 595,1671 (**4**, t_R 23,5), 609,1458 (**7**, t_R 24,9), 623,1634 (**9**, t_R 26,9) oraz 515,1184 (**14**, t_R 29,0). Natomiast w trybie jonizacji dodatniej we frakcji 1 zaobserwowano również siedem sygnałów, które przypisano jonom molekularnym $[M+H]^+$ przy m/z 597,1451 (**5**, t_R 24,4), 465,1034 (**6**, t_R 24,6), 465,1028 (**8**, t_R 26,2), 625,1409 (**10**, t_R 27,2), 449,1071 (**11**, t_R 27,6), 551,1037 (**12**, t_R 28,4) oraz 433,0883 (**13**, t_R 28,4) (załącznik 1).

Na podstawie widm fragmentacyjnych MS/MS oraz widm wysokorozdzielczych MS przypisano wstępnie struktury chemiczne metabolitów do zaobserwowanych pików jonów molekularnych. Fragmentacja MS większości struktur chemicznych powodowała odejście części cukrowej (heksozy, deoksyheksozy, pentozy i kwasu uronowego). Jednak przy użyciu techniki MS/MS jest niemożliwe rozróżnienie monosacharydowych epimerów. Dla jonu molekularnego przy m/z 353,0878, który ulega fragmentacji $[M - H - 162]^-$ głównie do jonu przy m/z 191 (kwas chinowego) oraz przy m/z 179 (kwas kawowy), przypisano wstępnie strukturę kwasu chlorogenowego lub neochlorogenowego na podstawie danych opublikowanych przez J.E. Lee i in. (2014). Z kolei jon molekularny przy m/z 467,1178 ulegający fragmentacji do jonów przy m/z 449 $[M - H - 18]^-$, 431 $[M - H - 36]^-$, 371 $[M - H - 96]^-$, 347 $[M - H - 120]^-$ oraz 305 $[M - H - 162]^-$ przypisano wstępnie metabolitowi o nazwie heksyzod galokatechiny do tej pory nieopisanemu w owocach aronii. Wstępną identyfikację oparto na podstawie jonów fragmentarycznych przy m/z 371 oraz 347, które są typowymi jonami powstałymi z rozpadu $^{0,4}X-2H_2O$ oraz $^{0,2}X$ pierścienia heksozy (Mikołajczyk-Bator i in., 2016), oraz jonu fragmentarycznego przy m/z 305 przypisanego galokatechinie na podstawie wysokorozdzielczej spektrometrii mas (załącznik 1). Obecność jonu molekularnego przy m/z 625,1434 w trybie jonizacji ujemnej oraz jonu fragmentarycznego MS^3 przy m/z 301 wraz z analizą wysokorozdzielczą oraz danymi literaturowymi (Tian i in., 2017) świadczy o obecności we frakcji 1 diheksozydu kwercetyny. Z kolei dla jonu molekularnego przy m/z 595,1671 ulegającemu głównie fragmentacji do jonu fragmentarycznego przy m/z 301 $[M - H - 162-132]^-$ przypisano wstępnie strukturę pochodnej kwercetyny (pentozyd-heksozyd kwercetyny). Identyfikację oparto na podstawie rozpadu fragmentarycznego, analizy wysokorozdzielczej MS oraz danych literaturowych (J.E. Lee i in., 2014). Obecność jonu molekularnego przy m/z 609,1458 we frakcji 1 oraz jonu fragmentarycznego przy m/z 301 (kwercetyna) wraz z analizą wysokorozdzielczą oraz danymi literaturowymi (J.E. Lee i in., 2014) wstępnie wskazuje na obecność pochodnej kwercetyny (deoksyheksozyd-heksozyd kwercetyny). W trybie jonizacji ujemnej zaobserwowany jon molekularny przy m/z 623,1634 oraz jego fragmentacja do jonu fragmentarycznego przy m/z 305 (izoramnetyna) wskazuje na obecność we frakcji 1 pochodnej izoramnetyny (pentozyd-deoksyheksozyd izoramnetyny). Identyfikację oparto również na analizie wysokorozdzielczej MS oraz danych literaturowych (J.E. Lee i in., 2014). Ostatni sygnał w trybie jonizacji ujemnej przy m/z 515,1184 uznano wstępnie za jon molekularny cynaryny na podstawie fragmentacji MS^3 , tj. jonów fragmentarycznych przy m/z 353 $[M - H - 162]^-$, 191 $[M - H - 162-162]^-$ oraz danych literaturowych (J.E. Lee i in., 2014).

W tej samej frakcji 1 wyizolowanej na złożu LiChroprep w trybie jonizacji dodatniej siedmiu jonom molekularnym $[M+H]^+$ przypisano wstępnie siedem

struktur chemicznych na podstawie fragmentacji masowej, wysokorozdzielczej spektrometrii mas oraz danych literaturowych. Dla jonu molekularnego przy m/z 597,1451 ulegającemu fragmentacji do jonu przy m/z 465 $[M + H - 132]^+$ oraz 303 $[M - H - 132-162]^+$ przypisano wstępnie strukturę pochodnej kwercetyny (pentozyd-heksozyd kwercetyny). Dodatkową informacją identyfikującą była wysokorozdzielcza spektrometria mas dla jonu przy m/z 597,1451 i 303,0497 oraz dane literaturowe (J.E. Lee i in., 2014). Z kolei jon molekularny przy m/z 465,1034, który ulega fragmentacji głównie do jonu przy m/z 289, został wstępnie przypisany metyloheksocyd eriodicytolu na podstawie wysokorozdzielczej spektrometrii mas oraz danych literaturowych, gdzie metabolit ten zidentyfikowano w owocach głogu (Tian i in., 2017). Obecność jonu molekularnego przy m/z 465,1028 oraz jonu fragmentarycznego przy m/z 303 $[M + H - 162]^+$ wraz z danymi z wysokorozdzielczej spektrometrii mas oraz danymi literaturowymi wstępnie wskazuje na strukturę heksozydu kwercetyny (J.E. Lee i in., 2014). Z kolei sygnał na chromatogramie przy t_R 27,2 dający jon molekularny przy m/z 625,1409, który ulega fragmentacji do jonów przy m/z 479 $[M + H - 146]^+$ i 317 $[M + H - 146 - 162]^+$, wstępnie przypisano pochodnej petunidyny (deoksyheksozyd heksozyd petunidyna) po raz pierwszy zidentyfikowanej w owocach aronii. Wstępną identyfikację oparto na analizie wysokorozdzielczej spektrometrii mas oraz informacji, że metabolit ten oznaczono w innych owocach jagodowych (Veberic i in., 2015). Kolejny sygnał przy t_R 27,6 z jonem molekularnym przy m/z 449,1071 ulegający fragmentacji do jonu przy m/z 287 został wstępnie przypisany jako heksozyd cyjanidyny na podstawie wysokorozdzielczej spektrometrii mas oraz danych literaturowych (X. Wu i in., 2004). Z kolei jon molekularny przy m/z 551,1037, który ulega rozpadowi głównie do jonu fragmentarycznego przy m/z 303, przypisano wstępnie jako malonyloheksozyd delfinidyny po raz pierwszy zidentyfikowanej w wytyłkach aronii. Wstępną identyfikację przeprowadzono na podstawie analizy wysokorozdzielczej spektrometrii mas oraz danych literaturowych, gdzie metabolit ten oznaczono w innych owocach jagodowych (X. Wu i in., 2004). Ostatni sygnał na chromatogramie przy t_R 28,4 z jonem molekularnym przy m/z 433,0783 ulegający fragmentacji poprzez oderwanie 132 Da (pentoza bez cząsteczki wody) wstępnie zidentyfikowano jako pentozyd kwercetyny na podstawie analizy wysokorozdzielczej spektrometrii mas. Metabolit ten został pierwszy raz wstępnie zidentyfikowany w wytyłkach aronii.

Na podstawie widm masowych frakcji 1 wyizolowanej na złożu poliamidowym wstępnie zidentyfikowano 11 struktur metabolitów. W trybie jonizacji ujemnej we frakcji 1 zaobserwowano dwa piki, które przypisano następującym jonom molekularnym $[M - H]^-$ przy m/z 447,0933 (**4**, t_R 14,8) i 609,1467 (**10**, t_R 24,7). Natomiast w trybie jonizacji dodatniej we frakcji 1 zaobserwowano dziewięć sygnałów, które przypisano jonom molekularnym $[M+H]^+$ przy m/z

611,1614 (**1**, t_R 11,1), 581,1505 (**2**, t_R 11,5), 449,1084 (**3**, t_R 13,8), 419,0969 (**5**, t_R 15,1), 437,1074 (**6**, t_R 19,2), 419,0969 (**7**, t_R 20,7), 449,1072 (**8**, t_R 20,7), 627,1564 (**9**, t_R 22,9) oraz 611,1605 (**11**, t_R 24,7). Jony molekularne o wartości m/z 611,1614, 581,1505 i 437,1074 w trybie jonizacji dodatniej i jon molekularny o wartości m/z 447,0933 w trybie jonizacji ujemnej wstępnie zidentyfikowano na podstawie analizy wysokorozdzielczej spektrometrii mas kolejno jako diheksozyd cyjanidyny, pentozyd heksozyd cyjanidyny, pentozyd galokatechiny i heksozyd cyjanidyny. Metabolity te również zostały pierwszy raz wstępnie zidentyfikowane w wytlókach aronii. Na tym etapie identyfikacji potwierdzono również obecność występowania metabolitów, które zostały zidentyfikowane w aronii i opisane w literaturze (Veberic i in., 2015). Sygnał przy t_R 13,8 z jonom molekularnym przy m/z 449,1084 ulegający fragmentacji do jonu przy m/z 287 został wstępnie przypisany jako heksozyd cyjanidyny na podstawie wysokorozdzielczej spektrometrii mas oraz danych literaturowych (Oszmiański i Wojdyło, 2005). Obecność jonów molekularnych przy m/z 419,0969 (**5**, t_R 15,1) oraz m/z 419,0969 (**7**, t_R 20,7) wraz z danymi z wysokorozdzielczej spektrometrii mas oraz danymi literaturowymi wstępnie wskazuje na strukturę pentozydu cyjanidyny (X. Wu i in., 2004). Kolejny sygnał przy t_R 22,9 przypisano jako diheksozyd kwercetyny (Tian i in., 2017). Na podstawie widm masowych dla jonów molekularnych m/z 609,1467 $[M - H]^-$ i 611,1605 $[M - H]^+$ wstępnie zidentyfikowano odpowiednio 3-rutozyd kwercetyny (t_R 24,7) i 3-rutozyd delfinidyny (t_R 24,7).

We frakcji 2 wyizolowanej na złożu LiChroprep zidentyfikowano 10 związków chemicznych, wśród których wstępnie zidentyfikowano 8 struktur metabolitów, tj. pentozyd kaempferolu, heksozyd kaempferolu, pentozyd heksozyd kwercetyny, heksozyd deoksyheksozyd izoramnetyny, pentozyd deoksyheksozyd kaempferolu, pentozyd kwercetyny, cynarynę i heksozyd kwas ferulikowy kwercetyny, które miały czasy retencji, odpowiednio, 17,6 minut, 18,2 minut, 24,2 minut, 26,6 minuty, 26,9 min, 27,9 minut, 28,8 minut i 33,8 minut. Na podstawie otrzymanych widm masowych w trybie jonizacji ujemnej dla tej frakcji nie zidentyfikowano dwóch związków, które pojawiły się w czasie retencji wynoszącym 22,9 minut oraz 34,6 minut. Uzyskane dane potwierdzają również wstępne struktury chemiczne dla pięciu metabolitów, które do tej pory nie zostały opisane w owocach aronii, o następujących jonach molekularnych $[M - H]^-$ przy m/z 417,0833, 465,1034, 593,1520, 433,0783 oraz 639,1362. Strukturę pentozydu kaempferolu przy m/z 417,0833, który ulega fragmentacji głównie do jonu przy m/z 285 opisano w literaturze jako występującą w liściach owoców jagodowych (Tian i in., 2017).

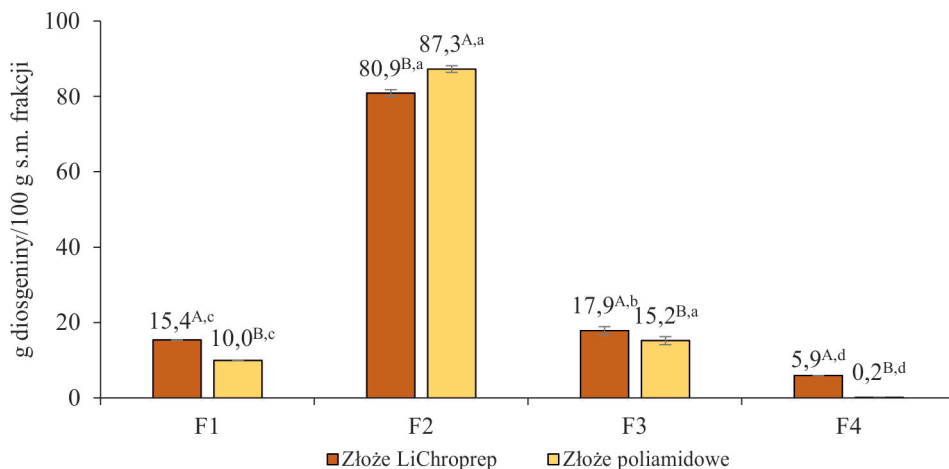
Fracja 2 otrzymana po rozdziale na kolumnie ze złożem poliamidowym zawierała z kolei wstępnie osiem metabolitów, które przypisano następującym jonom molekularnym $[M - H]^-$ przy m/z 465,1039 (**1**, t_R 11,8), 819,1620 (**2**, t_R 13,0), 595,1312 (**3**, t_R 21,6), 609,1274 (**4**, t_R 23,5), 707,2553 (**5**, t_R 31,0),

693,3871 (**6**, t_R 32,4), 695,4025 (**7**, t_R 34,2), 693,3871 (**8**, t_R 39,4). Dla jonu molekularnego przy m/z 595,1312 ulegającemu fragmentacji do jonu przy m/z 179 przypisano wstępnie strukturę pentozyd heksozyd kwercetyny. Dodatkową informację identyfikującą dla tego związku stanowiły dane literaturowe (Skupień i Oszmiański, 2007). Z kolei jon molekularny przy m/z 609,1274, który ulega fragmentacji głównie do jonu przy m/z 151, został wstępnie przypisany jako heksozyd deoksyheksozyd kwercetyny na podstawie wysokorozdzielczej spektrometrii mas oraz informacji z literatury (Brazdauskas i in., 2016).

We frakcji 3 wyizolowanej na złożu LiChroprep zidentyfikowano wstępnie dziewięć metabolitów przy m/z 435,0938 (**1**, t_R 8,6), 503,3383 (**2**, t_R 37,6), 489,3518 (**3**, t_R 44,4), 503,3379 (**4**, t_R 46,0), 503,3376 (**5**, t_R 49,6), 501,3221 (**6**, t_R 53,0), 501,3223 (**7**, t_R 55,2), 503,3376 (**8**, t_R 56,7), 487,3430 (**9**, t_R 59,2). Natomiast frakcja 3 wyizolowana na złożu poliamidowym zawierała 11 związków, którym przypisano jony molekularne przy m/z 609,1458 (**1**, t_R 26,2), 503,3367 (**2**, t_R 36,4), 503,3367 (**3**, t_R 43,8), 501,3211 (**4**, t_R 41,4), 503,3379 (**5**, t_R 53,8), 487,3418 (**6**, t_R 57,1), 487,3418 (**7**, t_R 58,2), 517,3524 (**8**, t_R 58,6), 485,3268 (**9**, t_R 60,2), 471,3469 (**10**, t_R 61,3), 513,3575 (**11**, t_R 63,9). Dla frakcji 3 wyizolowanej na obydwóch złożach zidentyfikowano metabolity tylko w trybie jonizacji ujemnej. Na podstawie analizy mas i danych literaturowych wstępnie założono, że we frakcji 3 wyizolowanej na obydwóch złożach mogą występować kwasy triterpenowe, których wcześniej nie zidentyfikowano w owocach aronii. Na podstawie analizy literatury stwierdzono, że niektóre piki na chromatogramie odpowiadają jonom molekularnym zidentyfikowanym w innych roślinach należących do rodziny różowatych (tak samo jak aronia). Na przykład jon molekularny przy m/z 501,3211 zaobserwowany we frakcji 3 po rozdziale na złożu poliamidowym został zidentyfikowany przez Sut i in. (2019) w skórkach jabłek jako pochodna kwasu triterpenowego (*pomaceic acid*).

Dla uzyskanych frakcji 4 na złożach LiChroprep i poliamidowym nie przeprowadzono wstępnej analizy dotyczącej identyfikacji związków organicznych ze względu na słabe sygnały w chromatogramie HPLC, które świadczą o bardzo niskim stężeniu związków zawartych w tych frakcjach. Na podstawie wstępnej analizy jakościowej (załącznik 1) dotyczącej identyfikacji metabolitów zawartych w wyizolowanych frakcjach zaobserwowano jony molekularne, które mogą sugerować występowanie saponin. Na tej podstawie przeprowadzono oznaczenie na ogólną zawartość saponin w wyizolowanych frakcjach na złożach LiChroprep i poliamidowym. Ogólną zawartość saponin przedstawiono na rysunku 31.

Wśród badanych frakcji wyizolowanych na złożu LiChroprep ogólna zawartość saponin kształtowała się na poziomie od 5,9 do 80,9 g diosgeniny/100 g s.m. frakcji ekstraktu. Natomiast wśród badanych frakcji wyizolowanych na złożu poliamidowym zawartość tych związków oscylowała na poziomie od 0,2 do 87,3 g diosgeniny/100 g s.m. frakcji ekstraktu. Ogólna zawartość saponin była



Objaśnienia:

* Wartości średnie oznaczone różnymi literami (A–B) różnią się statystycznie istotnie w obrębie danej frakcji ($p < 0,05$).

** Wartości średnie oznaczone różnymi literami (a–d) różnią się statystycznie istotnie między frakcjami w obrębie danego złoża użytego do izolacji ($p < 0,05$).

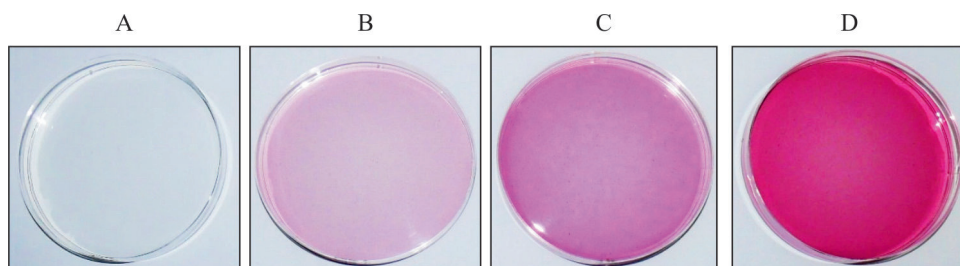
Rysunek 31. Ogólna zawartość saponin (TSC) w wyizolowanych frakcjach ekstraktów z wycieków aronii odmiany Nero (WN) uzyskanych w wyniku ekstrakcji 60-procentowym roztworem alkoholu etylowego podczas 20-minutowej sonikacji na złożach LiChroprep i poliamidowym

Źródło: Opracowanie własne.

najwyższa dla frakcji 2 wmywanej 40-procentowym alkoholem etylowym na obydwóch złożach, przy czym wyższą o prawie 8% zawartość saponin oznaczono dla frakcji wyizolowanej na złożu poliamidowym w porównaniu ze złożem LiChroprep.

5.6. Ocena technicznej koncepcji jadalnych osłonek z dodatkiem ekstraktu z wycieków aronii

Kolejnym przedmiotem badań było opracowanie eksperymentalnych osłonek jadalnych na bazie chitozanu z dodatkiem frakcji 2 wyizolowanej z ekstraktu z wycieków aronii uzyskanego na złożu poliamidowym, w ilości 0,5%, 1%, 1,5%. Próbkę kontrolną stanowiła chitozanowa osłonka bez dodatku frakcji 2. Jako dodatek do matrycy chitozanowych osłonek zastosowano frakcję 2, wyizolowaną na złożu poliamidowym, ponieważ stwierdzono jej najsilniejsze działanie przeciwutleniające. Eksperymentalne chitozanowe osłonki jadalne z dodatkiem i bez dodatku frakcji 2 ekstraktu z wycieków aronii przedstawiono na rysunku 32.



Rysunek 32. Chitozanowe osłonki jadalne (A) bez dodatku, (B) z dodatkiem 0,5%, (C) z dodatkiem 1%, (D) z dodatkiem 1,5% frakcji 2 ekstraktu z wytlóków aronii

Źródło: Fotografie własne.

Na podstawie opracowanych koncepcji eksperymentalnych chitozanowych osłonek jadalnych przeprowadzono ocenę ich właściwości użytkowych. W tym celu zakres przeprowadzonych analiz obejmował:

- instrumentalny pomiar barwy ($L^*a^*b^*$, $L^*C^*h^\circ$),
- transmitancję optyczną (T),
- rozpuszczalność w wodzie (WS),
- szybkość przenikania pary wodnej (WVTR) i przepuszczalność pary wodnej (WVP),
- przepuszczalność tlenu (OTR),
- analizę struktury (FTIR),
- skaningową mikroskopię elektronową (SEM),
- analizę właściwości przeciwutleniających (DPPH, ABTS).

Instrumentalny pomiar barwy ($L^*a^*b^*$, $L^*C^*h^\circ$)

W tabeli 17 przedstawiono parametry barwy otrzymanych chitozanowych osłonek. Ocena parametrów barwy jest często stosowana w przemyśle spożywczym ze względu na wysokie połączenie systemu przestrzeni kolorów z wrażeniem wizualnym (Czapski i Walkowiak-Tomczak, 2008). Kontrola barwy dostarcza informacji w zakresie precyzyjnej oceny jakości i stanu produktu żywnościowego. Wykorzystanie tego parametru pozwala zidentyfikować podczas kontroli pogorszenie się stanu zapakowanej żywności w wyniku ekspozycji na światło widzialne i ultrafioletowe, co w konsekwencji prowadzi do utraty składników odżywczych, przebarwień i zmiany zapachów.

Wyniki badania pokazują, że zwiększenie dodatku ekstraktu spowodowało spadek wartości parametru L i wzrost wartości współrzędnej a^* , co wskazuje na spadek jasności i wzrost zaczerwienienia analizowanej próbki w porównaniu z próbą kontrolną. Zależność ta może wynikać z rosnącej zawartości polifenoli w próbkach (Perumalla i Hettiarachchy, 2011). Rubilar i in. (2013) zauważyli, że ekstrakt z pe-

Tabela 17. Parametry barwy dla chitozanowych osłonek o różnym dodatku frakcji 2 ekstraktu z wytlóków aronii

Dodatek frakcji (%)	Parametr				
	L*	a*	b*	C*	h°
0	96,6 ^a ± 0,1	0,0 ^a ± 0,0	1,9 ^b ± 0,2	1,9 ^a ± 0,2	99,2 ^a ± 0,4
0,5	84,0 ^b ± 0,4	8,6 ^b ± 0,2	0,0 ^a ± 0,0	8,6 ^b ± 0,2	356,3 ^c ± 0,3
1	75,0 ^c ± 2,0	13,4 ^c ± 1,5	0,0 ^a ± 0,0	12,5 ^c ± 0,2	351,8 ^b ± 2,2
1,5	67,9 ^d ± 0,6	21,4 ^d ± 1,7	0,0 ^a ± 0,0	21,8 ^d ± 2,3	355,4 ^c ± 1,2

Objaśnienia: Wartości przedstawiono jako średnia ± odchylenie standardowe.
a, b, c, d – grupy jednorodne w obrębie kolumn różnią się istotnie statystycznie ($p < 0,05$).

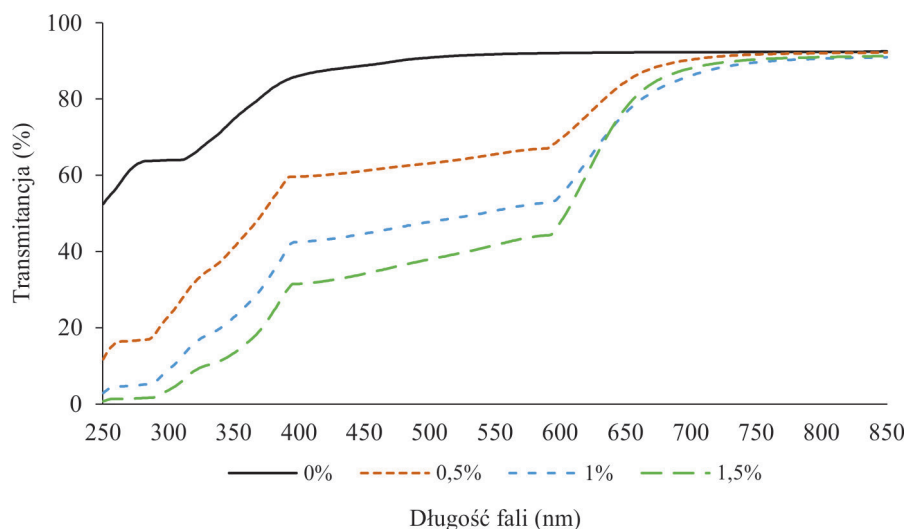
Źródło: Opracowanie własne.

stek winogron dodany do osłonek chitozanowych również zmniejszył ich jasność i zwiększył ich zaczerwienienie. Współrzędną trójchromatyczną b* z dodatkami wartościami reprezentującymi żółty odcień zarejestrowano tylko dla próbki kontrolnej. Nasycenie barwy (C*) również wzrosło po dodaniu ekstraktu, co oznacza, że nastąpił wzrost pigmentacji próbki wraz ze zwiększającym się dodatkiem ekstraktu. Wartość parametru h° (kąt odcienia) dla próbki kontrolnej wynosiła 99,2°, co wskazuje na pomarańczowożółte odcienie próbki. Tymczasem wszystkie analizowane próbki z dodatkiem ekstraktu miały odcień czerwono fioletowy.

Transmitancja optyczna (T)

Barierowość materiałów względem promieniowania UV-Vis ma istotne znaczenie dla fotoutwardzalnych składników żywności, takich jak lipidy. Promienie UV przyspieszają procesy obniżające jakość produktów zawierających dużą ilość tłuszczów, stąd coraz szersze zastosowanie mają tworzywa pigmentowane w opakowaniach (Yong i in., 2019). W związku z tym zbadano transmitancję światła badanych próbek, a wyniki przedstawiono na rysunku 33. Najwyższą transmisję światła UV-Vis wykazała próbka kontrolna. Przepuszczalność promieniowania UV analizowanych chitozanowych osłonek stopniowo malała wraz ze wzrostem zawartości ekstraktu z wytlóków aronii. Najwyższą redukcję przepuszczalności światła zaobserwowano w zakresie od 250 do 600 nm. Jest to dowód na to, że ekstrakty z wytlóków aronii wzmacniają barierę UV-Vis w warstwie chitozanu ze względu na obecność aromatycznych struktur pierścieniowych w cząsteczkach ekstraktu z aronii.

W literaturze zwiększone właściwości barierowe dla fali elektromagnetycznej w zakresie UV-Vis zaobserwowano również w chitozanowych osłonkach zawierających ekstrakty z kurkumy i a-tokoferolu (Kalaycioglu i in., 2017; Martins i in., 2012).



Rysunek 33. Przepuszczalność światła UV-Vis dla chitozanowych osłonek o różnym dodatku frakcji 2 ekstraktu z wyłoków aronii

Źródło: Opracowanie własne.

Rozpuszczalność w wodzie (WS)

Dodanie frakcji 2 ekstraktu z wyłoków aronii do sieciowania chitozanowych osłonek wpłynęło na wyższą rozpuszczalność w wodzie badanych próbek (tabela 19). Stwierdzono, że dodanie od 0,5% do 1,5% frakcji 2 ekstraktu z wyłoków aronii nieznacznie zwiększyło rozpuszczalność osłonek w wodzie. Różnice między wartościami rozpuszczalności w wodzie nie zawsze były istotne statystycznie. Wang i in. (2013) również stwierdzili, że dodanie polifenoli wyekstra-

Tabela 18. Grubość (d), rozpuszczalność w wodzie (WS), szybkość przenikania pary wodnej (WVTR), przepuszczalność pary wodnej (WVP) i przepuszczalność tlenu (OTR) dla chitozanowych osłonek o różnym dodatku frakcji 2 ekstraktu z wyłoków aronii

Dodatek frakcji (%)	d	WS	WVTR	WVP	OTR
	(mm)	(%)	($\text{g} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{d}^{-1}$)	($\text{g} \cdot \text{Pa}^{-1} \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{m}^{-1}$)	($\text{cm}^3 / \text{m}^2 \cdot \text{dzień}$)
0	$0,066^a \pm 0,01$	$88,0^a \pm 1,1$	$145,3^b \pm 5,3$	$3,34 \cdot 10^{-11b} \pm 1,7 \cdot 10^{-12}$	$88,4^b \pm 12,3$
0,5	$0,059^a \pm 0,01$	$90,0^{a,b} \pm 1,3$	$143,6^b \pm 8,8$	$3,03 \cdot 10^{-11b} \pm 1,8 \cdot 10^{-12}$	$76,3^{a,b} \pm 16,6$
1	$0,059^a \pm 0,02$	$90,3^{a,b} \pm 0,7$	$134,5^{a,b} \pm 9,0$	$1,35 \cdot 10^{-11a} \pm 1,7 \cdot 10^{-12}$	$70,5^{a,b} \pm 10,0$
1,5	$0,058^a \pm 0,01$	$91,0^b \pm 1,6$	$116,4^a \pm 12,9$	$1,21 \cdot 10^{-11a} \pm 1,3 \cdot 10^{-12}$	$64,4^a \pm 4,9$

Objaśnienia: Wartości przedstawiono jako średnia \pm odchylenie standardowe.

a, b – grupy jednorodnie w obrębie kolumn różnią się istotnie statystycznie ($p < 0,05$).

Źródło: Opracowanie własne.

howanych z herbaty do chitozanowych osłonek powoduje zwiększenie rozpuszczalności w wodzie analizowanych osłonek. Wyższa rozpuszczalność w wodzie może poprawić biodegradowalność osłonki, redukując czas jej rozkładu w warunkach naturalnych, co pozwoli na ograniczanie masy zużytych opakowań, z drugiej zaś strony redukuje jej możliwości aplikacyjne do żywności o wysokiej zawartości wody (Singh i Sharma, 2008).

Szybkość przenikania pary wodnej (WVTR) i przepuszczalność pary wodnej (WVP)

Jedną z ważnych właściwości funkcjonalnych opakowań żywności jest zmniejszenie transferu wilgoci między żywnością a otaczającą atmosferą. Ograniczenie przepuszczalności pary wodnej przez opakowanie jest bardzo ważne szczególnie w przypadku produktów o niskiej wilgotności (na przykład kruche ciastka, zbożowe koncentraty śniadaniowe). W innych zastosowaniach zmniejszenie wilgotności produktu jest zjawiskiem pożądanym dla zapobieżenia kondensacji pary wodnej wewnątrz opakowania (zmniejszenie przezroczystości) i ryzyka rozwoju pleśni. Otrzymane wartości szybkości przenikania pary wodnej (*water vaport transmission rate* – WVTR) oraz przepuszczalności pary wodnej (*water vapor permeability* – WVP) dla próbki kontrolnej i próbek z dodatkiem frakcji 2 ekstraktu z wyłoków aronii przedstawiono w tabeli 18. Wyniki badania wykazały, że właściwości barierowe dla pary wodnej badanych chitozanowych osłonek poprawiły się dzięki włączeniu ekstraktu z wyłoków aronii. Zwiększenie dodatku frakcji 2 ekstraktu skutkowało zmniejszeniem szybkości przenikania pary wodnej (WVTR) oraz przepuszczalności pary wodnej (WVP) przez badane próbki. Badania innych autorów pozwalają wyciągnąć podobne wnioski (Priyadarshi i in., 2018; Qin i in., 2015).

Przepuszczalność tlenu (OTR)

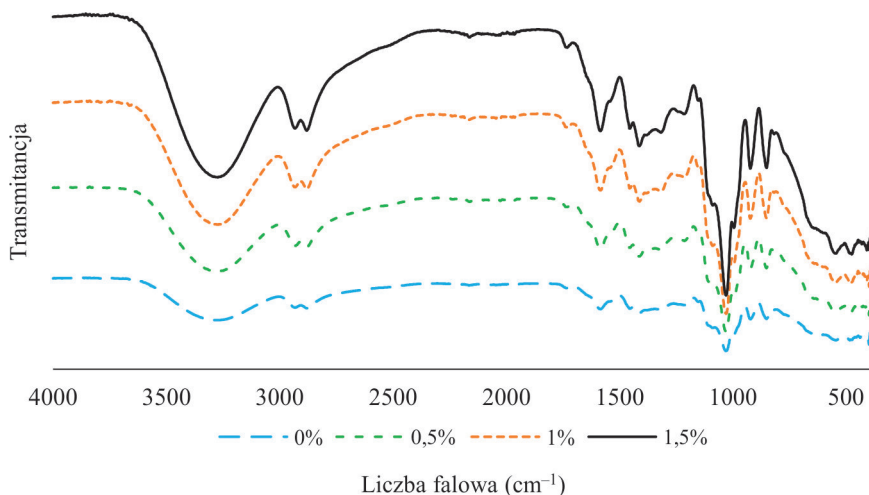
Przepuszczalność tlenu (*oxygen transmission rate* – OTR) w materiałach do pakowania żywności ma ogromne znaczenie dla trwałości żywności, ponieważ tlen jest kluczowym czynnikiem utleniającym (Sothornvit i Pitak, 2007). Wartości szybkości przenikania tlenu przez próbkę kontrolną i próbki z dodatkiem frakcji 2 ekstraktu z wyłoków aronii dodanym w różnych stężeniach przedstawiono w tabeli 18. Stwierdzono, że dodatek ekstraktu z wyłoków aronii w różnych proporcjach istotnie ($p < 0,05$) zmniejszył przepuszczalność tlenu chitozanowych osłonek. Im większą ilość frakcji 2 ekstraktu dodano do chitozanowych osłonek, tym mniejsza była szybkość przenikania tlenu. Sugeruje to, że polifenole zawarte we frakcji 2 ekstraktu z wyłoków aronii mogą znacznie poprawiać właściwości bariery tlenowej chitozanowej osłonki. Polifenole z ekstraktu z wyłoków aronii mogą uczestniczyć w oddziaływaniach międzycząsteczkowych z łańcuchami chitozanu i odgrywać rolę sieciującą w polimerycznych in-

terakcjach łańcuch-łańcuch (Siripatrawan i Vitchayakitti, 2016). Częsteczki te mogą również wypełniać pustą przestrzeń w chitozanowej osłonce, co skutkuje bardziej zwartą strukturą (Siripatrawan i Vitchayakitti, 2016).

Analiza struktury (FTIR)

Spektroskopia FTIR została użyta jako narzędzie do badania możliwych interakcji między cząsteczkami chitozanu i polifenolami obecnymi we frakcji 2 ekstraktu z wyłoków aronii poprzez pomiar transmitancji w zakresie liczb falowych $500\text{--}4000\text{ cm}^{-1}$. Rysunek 34 przedstawia profil FTIR uzyskany dla próbki kontrolnej (chitozanowa osłonka bez dodatku) i dla chitozanowych osłonek zawierających różne stężenia frakcji 2 ekstraktu.

Najbardziej istotne cechy widma chitozanowej osłonki to pasmo rozciągające OH i NH przy $3000\text{--}3700\text{ cm}^{-1}$, pasmo przy 2887 cm^{-1} związane ze rozciąganiem wiązań CH, pasmo przy 1590 cm^{-1} odpowiadające drganiom zginającym NH z drugorzędowej grupy amidowej oraz pasmo absorpcyjne przy 1750 cm^{-1} sugerujące obecność grup karbonylowych (drgania rozciągające C = O, acetylowany monomer) (Lawrie i in., 2007). Inne pasma absorpcyjne obecne między 1550 cm^{-1} a 900 cm^{-1} w widmach próbki kontrolnej i w próbkach z różną ilością frakcji 2 ekstraktu z wyłoków aronii są uważane za odpowiadające drganiom zginającym NH oraz rozciągającym C-N i C-O (Bajic i in., 2019). Zaobserwowano pewne różnice w widmach FTIR chitozanowych osłonek bez dodatku i z dodatkiem ekstraktu w różnych stężeniach. Najbardziej znaczące zmiany są zauważalne w chitozanowej osłonce zawierającej



Rysunek 34. Widma FTIR dla próbki kontrolnej i osłonek chitozanowych z różnym dodatkiem frakcji 2 ekstraktu z wyłoków aronii

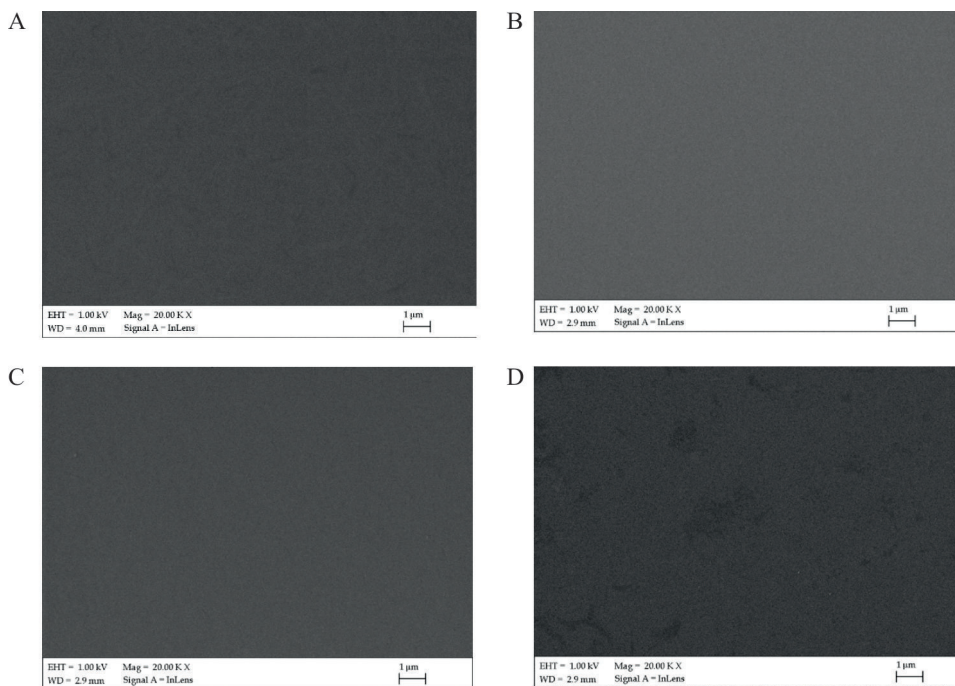
Źródło: Opracowanie własne.

najwyższe stężenie dodatku frakcji 2 ekstraktu z wyłoków aronii (1,5%) (rysunek 34). Stwierdzono wzrost intensywności pasma absorpcji odpowiadającego drganiom rozciągającym O-H ($3000\text{--}3700\text{ cm}^{-1}$) i pasma odpowiadającego rozciąganiu C = O (1750 cm^{-1}) i zginaniu N-H (1590 cm^{-1}) w stosunku do widm próbki kontrolnej.

Omówione wyniki sugerują, że między grupami NH i OH cząsteczek chitozanu a grupami OH cząsteczek obecnych w ekstraktach z aronii występują wodorowe wiązania międzycząsteczkowe, co zaobserwowano również dla innych ekstraktów roślinnych w literaturze (Bajić i in., 2019; Bi i in., 2019).

Skaningowa mikroskopia elektronowa (SEM)

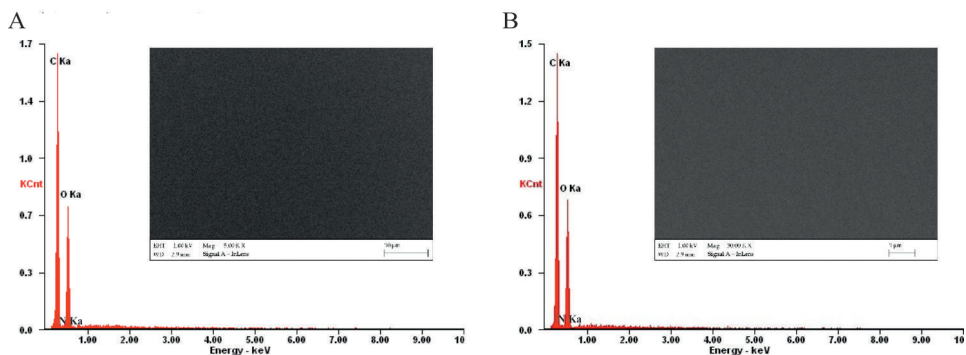
Wybrane wyniki badań SEM przedstawiono na rysunku 35. Powierzchnie chitozanowych osłonek są ciągłe i jednolite. Nie zarejestrowano żadnych zanieczyszczeń, osadów ani rozwarstwień. Dodatek 0,5%–1,5% frakcji 2 ekstraktu z wyłoków aronii nie wpływa w widoczny sposób na morfologię powierzchni



Rysunek 35. Obrazy SEM chitozanowych osłonek: (A) bez dodatku, (B) z 0,5-procentowym dodatkiem frakcji 2 ekstraktu z wyłoków aronii, (C) z 1-procentowym dodatkiem frakcji 2 ekstraktu z wyłoków aronii, (D) z 1,5-procentowym dodatkiem frakcji 2 ekstraktu z wyłoków aronii

Źródło: Opracowanie własne.

próbek. W widmie EDS dla chitozanowych osłonek zarejestrowano piki odpowiadające takim pierwiastkom, jak węgiel, tlen i azot. Potwierdza to czystość próbek. Na rysunku 36 przedstawiono przykład widm EDS dla chitozanowych osłonek bez dodatku i z 1,5-procentowym dodatkiem frakcji 2 ekstraktu z wytlóków aronii.



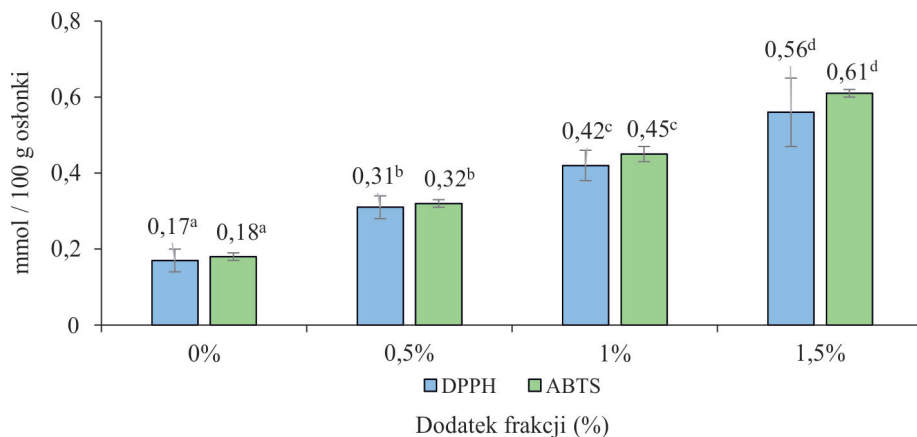
Rysunek 36. Widma EDS chitozanowych osłonek: (A) bez dodatku, (B) z 1,5-procentowym dodatkiem frakcji 2 ekstraktu z wytlóków aronii

Źródło: Opracowanie własne.

Analiza właściwości przeciwutleniających (DPPH, ABTS)

Do pomiaru aktywności przeciwutleniającej chitozanowych osłonek zastosowano dwie metody – test z rodnikiem DPPH i test zdolności do dezaktywacji kationorodników ABTS. Testy te opierają się na pomiarze absorbancji roztworów rodnika, którego zanik barwy w obecności badanej próbki świadczy o neutralizacji rodników, czyli przeciwutleniającym działaniu badanej próbki. Ocenę zdolności przeciwutleniającej chitozanowych osłonek przedstawiono na rysunku 37. Na podstawie przeprowadzonych badań stwierdzono, że badane osłonki wykazały działanie przeciwutleniające, ale ich aktywność była zróżnicowana.

Właściwości przeciwutleniające osłonki bez dodatku są powiązane z obecnością wolnej grupy aminowej (Yen i in., 2008). Analizując aktywność przeciwutleniającą pozostałych próbek, zauważono, że ze wzrostem ilości ekstraktu w próbce rosła aktywność badanej osłonki. Aktywność przeciwutleniająca osłonek mierzona testem DPPH[•] i ABTS^{•+} była zbliżona. W teście z rodnikiem DPPH aktywność określono na poziomie 0,31, 0,42 i 0,56 mmol/100 g osłonki, z kolei dla testu z kationorodnikiem ABTS – 0,32, 0,45 i 0,61 mmol/100 g osłonki odpowiednio dla stężeń 0,5%, 1% i 1,5%. Badane próbki różniły się od siebie aktywnością przeciwutleniającą, a różnice te zawsze były statystycznie istotne.



Rysunek 37. Porównanie zdolności antyoksydacyjnych chitozanowych osłonek w zależności od dodatku frakcji 2 ekstraktu z wycieków aronii mierzonych testami DPPH i ABTS

Źródło: Opracowanie własne.

Dostępne dane literaturowe dotyczące aktywności przeciwutleniającej chitozanowych osłonek są bardzo rozbieżne i trudne do porównania, co jest uwarunkowane różnicami wynikającymi z rodzaju zastosowanego materiału, metod analitycznych oraz sposobu prezentacji wyników. Dotychczasowe badania potwierdzają, że chitozanowe osłonki wykazują aktywność przeciwutleniającą, a ich wzbogacanie ekstraktami roślinnymi zwiększa właściwości przeciwutleniające.

W badaniach z wykorzystaniem rodnika DPPH przeprowadzonych przez Genskowsky'ego i in. (2015) stwierdzono, że dodatek zliofilizowanych owoców maqui w ilości 0,5% i 1% do chitozanowych osłonek wpływa na zwiększenie potencjału przeciwutleniającego badanych osłonek, który w zależności od stężenia dodatku wynosił odpowiednio 2,06 i 2,80 mg TE/g.

Wskazanie optymalnej ilości dodatku frakcji 2 ekstraktu z wycieków aronii do technicznych koncepcji eksperymentalnych chitozanowych osłonek jadalnych jest złożonym procesem, w którym trzeba wziąć pod uwagę wiele czynników, takich jak rodzaj produktu, który ma zostać powleczony osłonką, formę aplikacji osłonki, zachodzące zmiany w jakości organoleptycznej, właściwości przeciwdrobnoustrojowe czy przewidywany okres przedłużenia trwałości produktu. Przeprowadzone badania stanowią punkt wyjścia do kolejnych badań dotyczących opracowania i oceny prototypów osłonek jadalnych do wybranych grup produktów żywnościowych.

5.7. Ocena oszacowanych bezpośrednich kosztów wytworzenia osłonek z dodatkiem ekstraktu z wyłoków aronii

W pierwszej grupie wymagań stawianych materiałom opakowaniowym na szczególną uwagę zasługuje prostota i koszt wytworzenia opakowania. Czynniki ekonomiczne jest jednym z najważniejszych przy wyborze odpowiedniego materiału opakowaniowego. Jest on szczególnie ważny w przemyśle spożywczym, gdzie konkurencja cenowa ma kluczowe znaczenie. Ustalania kosztów wytworzenia produktów dokonuje się w celu ich wyceny oraz porównania z cenami sprzedaży netto. Zgodnie z Ustawą z dnia 29 września 1994 r. o rachunkowości (Dz.U. 2021, poz. 217 z późn. zm.) ustalanie kosztu wytworzenia produktu jest związane z przypisaniem danemu produktowi kosztów pozostających w bezpośrednim związku z nim oraz uzasadnionej części kosztów pośrednio związanych z wytworzeniem tego produktu.

Oszacowano bezpośrednie koszty wytworzenia opracowanych technicznych koncepcji chitozanowych osłonek bez dodatku i z dodatkiem w ilości 0,5%, 1% oraz 1,5% frakcji 2 ekstraktu z wyłoków aronii. Wyniki kalkulacji kosztów bezpośrednich wytworzenia chitozanowych osłonek przedstawiono w tabeli 19.

Tabela 19. Bezpośrednie koszty wytworzenia chitozanowych osłonek

Dodatek frakcji (%)	Koszt zużycia materiałów bezpośrednich (zł/kg)	Koszt zużycia energii technologicznej (zł/kg)	Koszt wytworzenia osłonki (zł/kg)
0	157,67	5,50	163,17
0,5	165,80	5,50	171,30
1	173,94	5,50	179,44
1,5	182,08	5,50	187,58

Źródło: Opracowanie własne.

Koszty te wyodrębniono za pomocą metody inżynierskiej. W analizie koncepcji nowego produktu metoda inżynierska daje możliwość ustalenia kosztu na podstawie analizy produktu i technologii jego wytwarzania. W kalkulacji kosztów wytworzenia osłonek uwzględniono koszty pozostające w bezpośrednim związku z wytworzonymi osłonkami, tj. zużycie materiałów bezpośrednich wraz z kosztami zakupu oraz uzasadnioną część kosztów pośrednio związanych z wytworzeniem tych osłonek. W kosztach pośrednich policzono tylko koszty zmienne, czyli energię elektryczną zużywaną przez maszyny i urządzenia. Natomiast koszty stałe, tj. wynagrodzenie pracownika i amortyzację urządzeń, pominięto w szacowaniu kosztów.

Najniższy koszt wytworzenia chitozanowej osłonki (163,17 zł/kg) uzyskano dla osłonki bez dodatku frakcji 2 ekstraktu z wycieków aronii. Koszt wytworzenia wzrastał wraz ze wzrostem procentowego dodatku frakcji w osłonkach. Koszt wytworzenia osłonki z 0,5-procentowym dodatkiem frakcji wyniósł 171,30 zł/kg, natomiast osłonki z 1-procentowym dodatkiem frakcji 179,44 zł/kg. Obliczone koszty wytworzenia chitozanowych osłonek z 0,5-procentowym i 1-procentowym dodatkiem frakcji 2 ekstraktu z wycieków aronii były odpowiednio o 4,98% i 9,97% wyższe niż koszt wytworzenia osłonki bez dodatku. Najwyższy koszt wytworzenia spośród badanych osłonek oszacowano dla osłonki z 1,5-procentowym dodatkiem frakcji i wyniósł on 187,58 zł/kg, co oznacza, że był wyższy o 14,96% od kosztu wytworzenia osłonki bez dodatku i o 4,54% wyższy od kosztu wytworzenia osłonki z 1-procentowym dodatkiem frakcji. Przedstawione dane wskazują, że dla chitozanowych osłonek bez dodatku i z dodatkami między 0,5% a 1,5% frakcji 2 ekstraktu z wycieków aronii każdorazowy wzrost ilości dodatku o 0,5 punktu procentowego powoduje wzrost kosztów wytworzenia osłonki o prawie 5%.

W części teoretycznej monografii wspomniano, że pierwsze produkty wykorzystujące technologię osłonek jadalnych wdrożono na rynku zagranicznym. Takim produktem jest na przykład Edipeel™ opracowany przez amerykański koncern Apeel Sciences. Produkt ten jest dostępny w sprzedaży, ale tylko w ramach pakietu usług, a ceny mogą się zmieniać w zależności od różnych czynników. Pakiet ten obejmuje sprzęt do mieszania i aplikacji, narzędzia do oceny jakości, inżynierów do zarządzania aplikacją oraz sam produkt. Apeel Sciences twierdzi, że sprzedaż pakietowa zapewnia zwiększoną kontrolę jakości, a sam produkt, stosowany konsekwentnie, wykaże optymalne działanie. Chociaż postępowanie koncernu wytwarzającego Edipeel™ jest zrozumiałe, może to zniechęcać mniejszych producentów, którzy są w stanie pozwolić sobie na zakup materiału, ale nie na dodatkowe usługi. Apeel Sciences nie opublikował bezpośrednich ofert cenowych za swoje usługi, jednak pewne wnioski można wyciągnąć na podstawie danych od producentów, którzy zaaplikowali Edipeel™ na różnego rodzaju produkty i rozpoczęli ich sprzedaż. W czerwcu 2018 roku awokado powlekane Edipeel™ rozpoczęło sprzedaż w sklepach spożywczych Costco i Harps w Stanach Zjednoczonych (Garfield, 2018). Chociaż sprzedawcy detaliczni stwierdzili, że zakup awokado traktowanych Edipeel™ kosztuje więcej, zdecydowali się sprzedawać je po tej samej cenie co awokado niepoddane obróbce. W podsumowaniu sprzedaży stwierdzono, że zastosowana strategia była opłacalna, ponieważ ograniczono straty produktu ze względu na przedłużenie jego trwałości i zwiększono jego sprzedaż. Harps poinformował, że w ciągu dwóch miesięcy od rozpoczęcia sprzedaży awokado z Edipeel odnotował 65-punktowy wzrost marży i 10-procentowy wzrost sprzedaży awokado (Garfield, 2018). Wzrost sprzedaży może wynikać z tego, że konsumenci chętniej kupują artykuły spożywcze o przedłużonej trwałości i wysokiej jakości.

5.8. Ocena postrzegania rozwoju innowacyjnych osłonek jadalnych przez podmioty z badanych branż

Innowacyjność to obecnie warunek skutecznego budowania potencjału konkurencyjności przedsiębiorstw, a zarządzanie innowacjami w zakresie poszukiwania, wdrażania i dyfuzji to umiejętność kluczowa z perspektywy długookresowego rozwoju każdej organizacji. W okresie od września do grudnia 2019 roku zostało przeprowadzone wśród technologów i menedżerów przedsiębiorstw badanie dotyczące oceny postrzegania i możliwości rozwoju chitozanowych osłonek jadalnych. W badaniu wykorzystano technikę indywidualnego wywiadu pogłębionego (*individual in-depth interview* – IDI). Badaniem objęto 19 menedżerów współodpowiedzialnych za projektowanie i rozwój produktów w podmiotach należących do grupy dużych, średnich, małych i mikroprzedsiębiorstw (w rozumieniu przepisów Załącznika nr 1 do Rozporządzenia Komisji (UE) nr 651/2014 z 14 czerwca 2014 roku uznającego niektóre rodzaje pomocy za zgodne z rynkiem wewnętrznym w zastosowaniu art. 107 i 108 Traktatu) związanych z branżą opakowaniową i owocowo-warzywną. Dobór respondentów był celowy. Wywiady zostały nagrane oraz poddane transkrypcji. Analiza wyników badania została przeprowadzona na podstawie podziału badanych podmiotów według dwóch kryteriów: branży i wielkości przedsiębiorstwa.

Pierwszym obszarem przeprowadzonego badania było zdiagnozowanie przedsiębiorstw w zakresie znajomości terminu „osłonka jadalna” i stosowania przez badane podmioty osłonek jadalnych dostępnych na rynku opakowań. Spośród badanych przedsiębiorstw zdecydowana większość (17 podmiotów) odpowiedziała, że osłonki jadalne są rodzajem folii/powłoki nakładanej na żywność nieprzetworzoną lub minimalnie przetworzoną, którą można spożyć wraz z tą osłonką. Z przeprowadzonego badania wynika, że tylko pięć podmiotów stosuje w swoim przedsiębiorstwie osłonki jadalne. Byli to producenci folii i osłonek, którzy reprezentowali duże przedsiębiorstwa (dwa podmioty) i średnie przedsiębiorstwa (trzy podmioty). Producenci folii i osłonek, którzy zadeklarowali stosowanie osłonek w swoich przedsiębiorstwach, jako przykłady wymieniali osłonki kolagenowe oraz alginianowe. Analizując wyniki przeprowadzonego badania, można stwierdzić, że producenci folii i osłonek, którzy stosują w swojej branży osłonki jadalne, robią to ze względu na ich zapotrzebowanie przede wszystkim w branży mięsnej i mleczarskiej dla wybranych wyrobów wędliniarskich i nabiałowych. Podkreślili oni także, że osłonki jadalne mają istotny wpływ na podwyższenie jakości produktów nieprzetworzonych lub w niskim stopniu przetworzonych, które na skutek zachodzących w nich procesów fizjologicznych (oddychanie, dojrzewanie) oraz działania czynników zewnętrznych (temperatury i wilgotności) są narażone na obniżenie jakości

wyrobów. Dziewięcioro przedsiębiorców, którzy zadeklarowali, że nie stosują w swoich przedsiębiorstwach osłonek jadalnych, wyraziło opinię, że znane im osłonki jadalne (na przykład kolagenowe) stanowią ważny i rozwijający się segment, mimo że ich udział w rynku jest nadal niski i nie ma zastosowania w ich branżach. Pozostałych pięcioro przedsiębiorców (z segmentu małych i mikroprzedsiębiorstw) nie wyraziło swojego zdania na temat potencjalnych korzyści lub barier stosowania tego typu osłonek.

Drugim obszarem przeprowadzonego badania była ocena zainteresowania przedsiębiorstw innowacyjnymi chitozanowymi osłonkami jadalnymi. Pytania stawiane w przeprowadzonym indywidualnym wywiadzie pogłębionym dotyczyły w szczególności następujących kwestii:

- Czy chitozanowe osłonki jadalne są dla przedsiębiorstwa innowacją?
- Jakie cechy powinny mieć chitozanowe osłonki jadalne, aby były stosowane przez przedsiębiorstwo?
- Czy jest możliwość zastosowania chitozanowych osłonek jadalnych w branży przedsiębiorstwa?
- Jeżeli nie ma możliwości zastosowania chitozanowych osłonek jadalnych w branży badanego przedsiębiorstwa, to kto mógłby być nimi zainteresowany?

Nikt z badanych przedstawicieli przedsiębiorstw nigdy wcześniej nie słyszał o chitozanowych osłonkach jadalnych. Niemniej jednak badani przedstawiciele podmiotów uznali powyższe rozwiązanie za przyszłościowe, o dużym potencjale rynkowym. Zdaniem reprezentantów jedenastu przedsiębiorstw chitozanowe osłonki jadalne, aby spełniały swoją funkcjonalność, powinny nadawać wyrobom naturalny wygląd, być niewyczuwalne w czasie spożycia, idealnie przylegać do produktu, charakteryzować się doskonałą elastycznością, zapewnić stabilność i powtarzalność produkcji oraz gwarantować bezpieczeństwo wyrobu gotowego i przedłużać jego trwałość. Natomiast badani z pozostałych ośmiu podmiotów, należących głównie do segmentu małych i mikroprzedsiębiorstw, nie wskazały cech użytkowych, jakimi powinny się charakteryzować chitozanowe osłonki. Zdaniem tej grupy przedsiębiorców ustalenie cech funkcjonalnych będzie uzależnione od ich potencjalnego przeznaczenia w danej branży spożywczej. Bez względu na branżę duże przedsiębiorstwa deklarowały największe zainteresowanie potencjalnym zastosowaniem i rozwojem chitozanowych osłonek jadalnych, natomiast najmniejsze zainteresowanie wykazały mikroprzedsiębiorstwa.

Analizując wyniki przeprowadzonego badania w zakresie potencjalnego zastosowania chitozanowych osłonek jadalnych, można stwierdzić, że mogą one być wykorzystane w branży owocowo-warzywniej (na przykład w postaci wewnętrznej innowacyjnej bariery ochronnej lub jako wyróżnik marketingowy). Szczególnie podkreśliło to czworo przedstawicieli producentów owoców i warzyw oraz treje przetwórców owoców i warzyw. Reprezentanci producentów oraz prze-

twórców owoców i warzyw, którzy zadeklarowali, że w ich branżach na owoce i warzywa są stosowane tzw. warstwy ochronne (wieloskładnikowe substancje pochodzenia naturalnego, o zbliżonym składzie do wosków naturalnych), byli szczególnie zainteresowani chitozanowymi osłonkami jadalnymi. Niezależnie od wielkości reprezentowanego przedsiębiorstwa dziewięcioro spośród analizowanych producentów oraz przetwórców owoców i warzyw zwróciło uwagę, że podstawowe straty jakości oraz ilości owoców i warzyw są zauważalne zwłaszcza między ich zbiorem a konsumpcją. Dlatego przedsiębiorstwa z tych branż uznały, że chitozanowe osłonki jadalne mogłyby stanowić ciekawą alternatywę dla obecnie stosowanych przez nich warstw ochronnych. Z kolei czterech producentów folii i osłonek oraz trzech producentów owoców i warzyw (duże i średnie przedsiębiorstwa) wspomniało, że chitozanowe osłonki jadalne mogą stanowić potencjalnie ciekawe rozwiązanie w lokalach gastronomicznych. Aplikacja tego typu osłonek na nieskonsumowane produkty być może przyczyniłaby się w tych miejscach do zmniejszenia skali marnowania żywności.

Kolejnym obszarem przeprowadzonego badania było poznanie silnych i słabych stron w zakresie rozwoju chitozanowych osłonek jadalnych z dodatkiem ekstraktu z wyłoków aronii, które w opinii przedsiębiorców mogą wpłynąć na ich rozwój (opinie producentów folii i osłonek, producentów i przetwórców owoców i warzyw zaprezentowano w tabeli 20). Czternaścioro przedsiębiorców z różnych branż zadeklarowało, że najważniejszym atutem w kontekście rozwoju chitozanowych osłonek jadalnych z dodatkiem ekstraktu z wyłoków aronii jest możliwość wydłużenia trwałości produktów poprzez spowalnianie fizjologicznych procesów dojrzewania i starzenia się.

Podkreślono silne strony jadalnych osłonek i ich szczególną rolę polegającą między innymi na ograniczeniu stosowania opakowań, wykonanych głównie z tworzyw sztucznych, co pozwala na redukcję ilości odpadów, które są obciążeniem dla środowiska. Badane przedsiębiorstwa uznały osłonki jadalne o dodatkowych cechach prozdrowotnych za przyszłościowe, o dużym potencjale rynkowym.

W przeprowadzonym indywidualnym wywiadzie pogłębionym zapytano również przedsiębiorców o słabe strony proponowanego rozwiązania. W opinii producentów folii i osłonek największą trudnością nastroczać może brak skuteczności tej osłonki jako bariery ograniczającej migrację pary wodnej. Choć ich zdaniem właściwości barierowe osłonki w stosunku do pary wodnej są ważne szczególnie w przypadku produktów, które charakteryzują się niską wilgotnością. Z kolei dla trzech producentów owoców i warzyw oraz dwóch przetwórców owoców i warzyw (z segmentu dużych i średnich przedsiębiorstw) wyzwaniem może stanowić na tym etapie brak informacji na temat całkowitego kosztu zastosowania osłonki łącznie z formą jej aplikacji na produkt. Dodatkowo przetwórcy owoców i warzyw podkreślili, że ta informacja byłaby dla nich ważna z powodu możliwości porównania cen osłonek jadalnych z obecnie stosowanymi woskami.

Tabela 20. Silne i słabe strony dotyczące rozwoju chitozanowych osłonek jadalnych z dodatkiem ekstraktu aronii w opinii podmiotów

Branża	Chitozanowe osłonki jadalne z dodatkiem ekstraktu z wytlóków aronii	
	Silne strony	Słabe strony
Producent folii i osłonek	<ul style="list-style-type: none"> – możliwość wydłużenia trwałości produktu poprzez spowalnianie fizjologicznych procesów dojrzewania i starzenia się – możliwość przedłużenia okresu magazynowania – możliwość zastosowania ich jako nośników substancji aktywnych – możliwość zastosowania ich jako bariery dla czynników zewnętrznych – możliwość zmniejszania ilości opakowań z tworzyw sztucznych – możliwość spożycia razem z produktem 	<ul style="list-style-type: none"> – niższe właściwości barierowe w stosunku do pary wodnej (nieskuteczność osłonki jako czynnika ograniczającego migrację pary wodnej) – należałoby wskazać metodę aplikacji (w postaci suchej czy mokrej) oraz produkty, dla których ta osłonka jest przeznaczona – brak możliwości samodzielnego zastosowania jako opakowania
Producent owoców i warzyw	<ul style="list-style-type: none"> – możliwość wydłużenia trwałości produktu poprzez spowalnianie fizjologicznych procesów dojrzewania i starzenia się – możliwość przedłużenia okresu magazynowania – możliwość nadania określonych właściwości sensorycznych – możliwość zastosowania ich jako nośników substancji aktywnych – możliwość zastosowania ich jako bariery dla czynników zewnętrznych 	<ul style="list-style-type: none"> – wyższy koszt osłonki w porównaniu ze stosowanymi woskami – należałoby wskazać metodę aplikacji (w postaci suchej czy mokrej) oraz produkty, dla których ta osłonka jest przeznaczona – niższe właściwości barierowe w stosunku do pary wodnej (nieskuteczność osłonki jako czynnika ograniczającego migrację pary wodnej) – konieczność edukacji konsumentów o szerokim zasięgu społecznym, aby zwiększyć popularność
Producent owoców i warzyw	<ul style="list-style-type: none"> – możliwość zmniejszania ilości opakowań z tworzyw sztucznych – możliwość spożycia razem z produktem – możliwość zastosowania ich jako innowacji ekologicznej i technologicznej 	<p>tych osłonek jako produktu o cenniejszych właściwościach</p>

Branża	Chitozanowe osłonki jadalne z dodatkiem ekstraktu z wytloków aronii	
	Silne strony	Słabe strony
Przetwórcza owoców i warzyw	<ul style="list-style-type: none"> – możliwość wydłużenia trwałości produktu poprzez spowolnienie fizjologicznych procesów dojrzewania i starzenia się – możliwość przetworzenia ich razem z produktem 	<ul style="list-style-type: none"> – koszt osłonki (jak osłonka wpłynie na koszt skupu surowca) w porównaniu ze stosowanymi woskami – należałoby wskazać metodę aplikacji

Źródło: Opracowanie własne.

Większość producentów folii i osłonek (6 na 8 badanych) wskazała, że osłonki jadalne na bazie chitozanu nie mogą być stosowane samodzielnie, a tym samym nie mogą być uznane za pełnowartościowe opakowanie. Jednak zwrócono także uwagę, że dotychczasowe opakowania tradycyjne, głównie z tworzyw sztucznych, pełniące funkcję pasywną (na przykład ochronną, marketingową, informacyjną), stały się niewystarczające.

Ostatnim analizowanym obszarem wywiadu było poznanie opinii przedsiębiorców na temat kierunków rozwoju osłonek jadalnych o dodatkowych cechach prozdrowotnych. Według przedstawicieli badanych z piętnastu przedsiębiorstw ze wszystkich analizowanych branż ten kierunek rozwoju został oceniony jako silnie wpływający na konkurencyjność przedsiębiorstw przede wszystkim dla niedegradowalnych osłonek z tworzyw sztucznych, ale też dla osłonek jadalnych, które nie wykazują dodatkowych cech prozdrowotnych. Większość reprezentantów dużych i średnich przedsiębiorstw (siedem na jedenaście badanych podmiotów) uznała, że produkty żywnościowe, które zostaną powleczone chitozanową osłonką jadalną o podwyższonych cechach prozdrowotnych, w pierwszej kolejności mogą skupić uwagę konsumentów, którzy troszczą się o środowisko i starają się żyć bardziej ekologicznie. Ponadto zainteresowani mogą być konsumenci skoncentrowani na własnym zdrowiu i dobrym samopoczuciu, którzy będą szukać składników, produktów i połączeń zapewniających im korzyści odżywcze. Czterech przetwórców owoców i warzyw podkreśliło, że jedną z kluczowych kwestii mogących wpłynąć na rozwój chitozanowych osłonek jadalnych o dodatkowych cechach prozdrowotnych jest to, że do ich wytworzenia można wykorzystać niektóre odpady uciążliwe dla środowiska lub uboczne produkty przemysłu spożywczego, które są generowane w ich zakładach przetwórczych w dużych ilościach. W opinii tych badanych znaczna część produktów ubocznych, które powstają w trakcie przetwarzania owoców i warzyw, jest nieracjonalnie składowana i wykorzystywana, co stanowi potencjalne zagrożenie dla środowiska i jest przejawem marnotrawstwa. Odpady te mogą

stanowić cenny surowiec wtórny z uwagi na ich właściwości, na przykład prozdrowotne i (lub) barwiące. Wtórne ich wykorzystanie może przynieść zatem korzyści zarówno ekonomiczne, jak i ekologiczne.

W przeprowadzonym badaniu trzech producentów folii i osłonek oraz trzech producentów owoców i warzyw zwróciło uwagę na potrzebę zwiększania świadomości konsumentów odnośnie do korzyści płynących ze stosowania osłonek jadalnych, zwłaszcza w aspektach środowiskowych. Podkreślili oni również, że należy postrzegać i przedstawiać konsumentom zastosowanie chitozanowych osłonek jadalnych z dodatkiem ekstraktu z aronii jako innowację ekologiczną i technologiczną, które będą promować gospodarkę o obiegu zamkniętym i współtworzyć ekologiczne i pozbawione odpadów środowisko.

Wyniki przeprowadzonego badania jakościowego dotyczącego postrzegania i perspektyw rozwoju chitozanowych osłonek jadalnych o cechach prozdrowotnych wykazały, że zdaniem badanych przedstawicieli przedsiębiorstw zaprojektowane osłonki mogą wydłużyć trwałość produktów i są przyjazne dla środowiska. Postrzeganie i perspektywa rozwoju są uzależnione od branży i wielkości przedsiębiorstwa. Spośród analizowanych branż najwyższe zainteresowanie w zakresie potencjalnego zastosowania wykazali producenci owoców i warzyw, jednak zauważyli oni, że wyzwaniem może stanowić aplikacja tego typu osłonek na produkty, jak również brak wiedzy na temat kosztów zastosowania omawianych osłonek w porównaniu z obecnie stosowanymi przez nich woskami. Z kolei producenci folii i osłonek uznali, że najważniejszym atutem w kontekście rozwoju chitozanowych osłonek jadalnych z dodatkiem ekstraktu z wyłoków aronii jest możliwość wydłużenia trwałości produktów, a ich wdrożenie silnie wpłynęłoby na konkurencyjność dla niedegradowalnych osłonek z tworzyw sztucznych. Wśród słabych stron tego typu osłonek wskazywali na możliwy brak jej skuteczności jako bariery ograniczającej migrację pary wodnej. Natomiast przetwórcy owoców i warzyw podkreślili, że jedną z kluczowych kwestii, które mogą wpłynąć na rozwój chitozanowych osłonek jadalnych o dodatkowych cechach prozdrowotnych, jest to, że do ich wytworzenia można zagospodarować niektóre uboczne produkty przemysłu spożywczego, które są generowane w ich zakładach przetwórczych w dużych ilościach. Bez względu na branżę duże przedsiębiorstwa deklarowały największe zainteresowanie potencjalnym zastosowaniem i rozwojem chitozanowych osłonek jadalnych, natomiast najmniejsze zainteresowanie wykazały mikroprzedsiębiorstwa. Chitozanowe osłonki jadalne o cechach prozdrowotnych, mimo wskazanych słabych stron, zostały uznane przez badanych jako rozwiązanie przyszłościowe, o dużym potencjale rynkowym.

5.9. Podsumowanie

Wyniki badań własnych pozwoliły na weryfikację postawionych hipotez badawczych. Zastosowanie zaprojektowanego eksperymentu metodą płaszczyzny odpowiedzi RSM do optymalizacji procesu ekstrakcji z wyłoków aronii przy użyciu alkoholu etylowego i techniki ultradźwiękowej pozwoliło określić wpływ poszczególnych parametrów procesu ekstrakcji na ogólną zawartość związków fenolowych, ogólną zawartość antocyjanów i właściwości przeciwutleniające. Na podstawie uzyskanych wyników z przeprowadzonej walidacji zoptymalizowanego modelu stwierdzono, że optymalne warunki ekstrakcji związków bioaktywnych z wyłoków aronii występują przy użyciu 60-procentowego roztworu alkoholu etylowego i podczas 20-minutowej sonikacji, co pozwala na pozytywne zweryfikowanie pierwszej hipotezy badawczej. W przeprowadzonym badaniu zaobserwowano, że wpływ pola ultradźwiękowego w procesie sonikacji przy odpowiednim stężeniu alkoholu etylowego wpływa na wzrost zawartości poszczególnych substancji bioaktywnych w ekstraktach. Uzyskane matematyczne modele pozwalają na wyznaczenie optymalnych parametrów procesu, które spełniają założone na wstępie warunki. Przeprowadzone wyniki mogą posłużyć w badaniach i zastosowaniach przemysłowych procesów ekstrakcji dla produktów ubocznych przetwórstwa aronii.

Przedstawiono procedurę otrzymywania i frakcjonowania grupy związków o wysokich właściwościach przeciwutleniających. Opracowana metoda frakcjonowania wykorzystująca dwa typy złożeń: LiChroprep RP-18 i poliamid-6 pozwoliła na otrzymanie frakcji o wysokiej koncentracji związków biologicznie czynnych o właściwościach przeciwutleniających. Wyniki badań wykazały, że frakcja 2, wyizolowana z ekstraktu z wyłoków aronii uzyskanego w wyniku ekstrakcji 60-procentowym roztworem alkoholu etylowego podczas 20-minutowej sonikacji na złożu poliamidowym, charakteryzuje się najwyższym potencjałem przeciwutleniającym. Właściwości przeciwutleniające były wyższe o około 30% we frakcji 2 wyizolowanej na złożu poliamidowym w porównaniu do frakcji 2 wyizolowanej na złożu LiChroprep. W przypadku ogólnej zawartości antocyjanów oznaczona zawartość we frakcji 2 wyizolowanej na złożu poliamidowym była o około 65% wyższa niż uzyskana we frakcji 2 przy zastosowaniu złoża LiChroprep. Natomiast ogólna zawartość związków fenolowych z frakcją 2 wyizolowanej na złożu poliamidowym była o około 3% wyższa w porównaniu do frakcji drugiej wyizolowanej na złożu LiChroprep. Analiza statystyczna potwierdziła również, że zarówno rodzaj frakcji, rodzaj złoża, jak i ich kombinacje determinują poziom ogólnej zawartości związków fenolowych, ogólnej zawartości antocyjanów i właściwości przeciwutleniających. Należy podkreślić, że otrzymywanie aktywnej frakcji drugiej przy użyciu złoża poliamidowego

stanowiło korzystną alternatywę dla złoza LiChroprep, ponieważ chromatografia kolumnowa ze złożem poliamidowym zapewniła wyższy odzysk oznaczanych grup związków o wysokich właściwościach przeciwutleniających, szczególnie barwników antocyjanowych. Ponadto zastosowanie złoza poliamidowego jest bardziej ekonomicznym rozwiązaniem między innymi ze względu na koszt samego złoza, które jest ponad pięciokrotnie tańsze w porównaniu ze złożem LiChroprep. Wstępna analiza dotycząca identyfikacji związków organicznych zawartych w wyizolowanych frakcjach na złożach LiChroprep i poliamid z ekstraktu z wyłoków aronii została przeprowadzona za pomocą dwóch metod instrumentalnych (HPLC-ESI-IT-MS i UPLC-Q-Orbitrap-MS). W analizowanych frakcjach przypisano wstępnie struktury chemiczne na podstawie fragmentacji masowej, wysokorozdzielczej spektrometrii mas oraz danych literaturowych. Stwierdzono występowanie w wyłokach aronii związków z grupy między innymi kwasów fenolowych, flawonoli i antocyjanów. Na podstawie uzyskanych wyników oraz analizy literatury przypisano również wstępnie struktury chemiczne dla kilku metabolitów, które do tej pory nie zostały opisane w owocach aronii. Niektóre piki na chromatogramie odpowiadają jonom molekularnym, które mogą sugerować występowanie w tej roślinie między innymi saponin do tej pory niezidentyfikowanych w aronii. Natomiast pochodne kwasów triterpenowych zostały zaobserwowane w innych roślinach należących do rodziny różowatych, do których również zaliczana jest aronia. Ogólna zawartość saponin była najwyższa we frakcji 2 wmywanej 40-procentowym alkoholem etylowym na złożu poliamidowym. Omówione wyniki pozytywnie weryfikują drugą hipotezę przyjętą w niniejszej monografii.

Na kolejnym etapie opracowano eksperymentalne osłonki jadalne na bazie chitozanu z dodatkiem frakcji 2 ekstraktu z wyłoków aronii uzyskanego w wyniku ekstrakcji 60-procentowym roztworem alkoholu etylowego podczas 20-minutowej sonikacji na złożu poliamidowym. Próbkę kontrolną stanowiła osłonka bez dodatku tej frakcji. Jako dodatek do matrycy chitozanowych osłonek, poprawiających ich właściwości użytkowe, zastosowano frakcję 2 wyizolowaną na złożu poliamidowym, ponieważ ze względu na najwyższą koncentrację substancji biologicznie czynnych stwierdzono jej najsilniejsze działanie przeciwutleniające. Dodatek frakcji 2 ekstraktu z wyłoków aronii na poziomie 0,5%–1,5% do chitozanowych osłonek pozwolił na uzyskanie innowacyjnych chitozanowych osłonek o podwyższonych właściwościach użytkowych oraz prozdrowotnych. Zostało to potwierdzone w przeprowadzonych badaniach cech użytkowych badanych osłonek. Wraz ze wzrostem zawartości dodatku frakcji 2 ekstraktu z wyłoków aronii wzrastała bariera UV-Vis badanych osłonek. Z kolei zwiększanie dodatku frakcji 2 ekstraktu z wyłoków aronii powodowało zmniejszenie przenikalności pary wody. Dodatek od 0,5% do 1,5% frakcji 2 ekstraktu z wyłoków aronii nieznacznie zwiększył rozpuszczalność osłonek w wodzie. Natomiast

wraz ze wzrostem dodatku frakcji drugiej zmniejszyła się przepuszczalność tleno chitozanowych osłonek. Sugeruje to, że związki biologicznie czynne o właściwościach przeciwutleniających zawarte we frakcji drugiej ekstraktu z wyłóków aronii mogą znacznie poprawiać właściwości bariery tlenowej chitozanowej osłonki. Wszystkie badane osłonki wykazały działanie przeciwutleniające, jednak ich aktywność była zróżnicowana. Zaobserwowano, że wraz ze wzrostem ilości ekstraktu w próbce wzrastał potencjał przeciwutleniający osłonki. Uzyskane wyniki pozwalają pozytywnie zweryfikować trzecią hipotezę.

Na ostatnim etapie badań przeprowadzono indywidualne wywiady pogłębione, aby ocenić postrzeganie rozwoju innowacyjnych osłonek jadalnych przez wybranych przedsiębiorców w zależności od branży i wielkości przedsiębiorstwa. Nikt z badanych nigdy wcześniej nie słyszał o chitozanowych osłoncek jadalnych. Największe zainteresowanie w zakresie potencjalnego zastosowania tego typu osłonek w swojej branży wykazali producenci i przetwórcy owoców i warzyw. Badani uznali, że zaprojektowane chitozanowe osłonki mogłyby wykorzystać w swoich branżach jako wewnętrzną innowacyjną barierę ochronną oraz jako wyróżnik marketingowy. Wśród słabych stron wymieniali obawy związane z możliwościami aplikacyjnymi tego typu osłonki na produktach oraz brak wiedzy na temat kosztów jej zastosowania w porównaniu ze stosowanymi obecnie przez nich woskami. Z kolei producenci folii i osłonek oraz producenci owoców i warzyw, głównie przedstawiciele dużych i średnich przedsiębiorstw, uznali, że najważniejszym atutem w kontekście rozwoju chitozanowych osłonek jadalnych jest możliwość wydłużenia trwałości produktów. Ich wdrożenie również silnie wpłynęłoby na konkurencyjność dla niedegradowalnych osłonek z tworzyw sztucznych. Podkreślili również, że zaprojektowane osłonki mogłyby być aplikowane na nieskonsumowane produkty w lokalach gastronomicznych w celu przedłużenia ich trwałości. Takie zastosowanie mogłoby potencjalnie przyczynić się do zmniejszenia skali marnowania żywności. Wśród słabych stron tego typu osłonek wskazywali na możliwy brak jej skuteczności jako bariery ograniczającej migrację pary wodnej. Natomiast przetwórcy owoców i warzyw podkreślili, że jedną z kluczowych kwestii, która może wpłynąć na rozwój chitozanowych osłonek jadalnych o dodatkowych cechach prozdrowotnych, jest możliwość wykorzystania niektórych produktów ubocznych powstających w ich przedsiębiorstwach. Bez względu na branżę przedstawiciele dużych przedsiębiorstw deklarowali największe zainteresowanie potencjalnym zastosowaniem i rozwojem chitozanowych osłonek jadalnych, natomiast najmniejsze zainteresowanie wykazywali przedstawiciele mikroprzedsiębiorstw. Można przypuszczać, że zainteresowanie wdrożeniem chitozanowych osłonek jadalnych w dużych przedsiębiorstwach jest wyższe, ponieważ mogłoby przyczynić się do zwiększenia zysku przez przedsiębiorstwo, poprawy jakości oferowanych usług i ulepszenia produktów, a także zwiększenia możliwości konkurencyjnej firmy na rynku. Z kolei

mikroprzedsiębiorstwa wykazały mniejsze zainteresowanie z powodu wysokich kosztów wynikających z wprowadzenia innowacji, zbyt małej ilości zasobów finansowych oraz braku odpowiedniego wyposażenia technicznego. Chitozanowe osłonki jadalne o cechach prozdrowotnych, mimo wskazanych słabych stron, zostały uznane przez badanych za rozwiązanie przyszłościowe, o dużym potencjale rynkowym. Kierunek rozwoju został oceniony jako silnie wpływający na konkurencyjność przedsiębiorstw przede wszystkim dla niedegradowalnych osłonek z tworzyw sztucznych, ale też dla osłonek, które nie wykazują dodatkowych cech prozdrowotnych. Wyniki przeprowadzonego badania jakościowego w obszarze postrzegania chitozanowych osłonek jadalnych przez przedsiębiorców z badanych branż pokazały, że osłonki zostały ocenione, głównie w dużych i średnich przedsiębiorstwach, jako innowacja ekologiczna i technologiczna, która powinna promować gospodarkę o obiegu zamkniętym. Chitozanowe osłonki jadalne mogą współtworzyć ekologiczne i pozbawione odpadów środowisko, ponieważ są innowacyjnym produktem, który ogranicza uwalnianie szkodliwych substancji w całym cyklu życia i przyczynia się do lepszego wykorzystania ograniczonych zasobów naturalnych.





6. Wnioski

Przeprowadzona analiza literatury i badania empiryczne pozwalają wyciągnąć następujące wnioski:

1. Zaprojektowany eksperyment metodą płaszczyzny odpowiedzi RSM do optymalizacji procesu ekstrakcji z wyłoków aronii przy użyciu alkoholu etylowego i techniki ultradźwiękowej pozwolił określić wpływ poszczególnych parametrów procesu na ogólną zawartość związków fenolowych, ogólną zawartość antocyjanów i właściwości przeciwutleniających zmierzonych testem DPPH. Optymalne warunki ekstrakcji związków bioaktywnych z wyłoków aronii odmiany Nero (WN) uzyskano przy użyciu 60-procentowego roztworu alkoholu etylowego podczas 20-minutowej sonikacji. W przeprowadzonym badaniu zaobserwowano wpływ pola ultradźwiękowego w procesie sonikacji przy odpowiednim stężeniu alkoholu etylowego na ilość substancji bioaktywnych zawartych w ekstraktach.
2. Opracowana metoda frakcjonowania ekstraktu z wyłoków aronii, w której wykorzystano chromatografię kolumnową ze złożem poliamidowym oraz różną procentową zawartość alkoholu etylowego w wodzie, pozwoliła na otrzymanie frakcji o wysokiej koncentracji związków biologicznie czynnych o właściwościach przeciwutleniających. Na podstawie fragmentacji masowej, wysokorozdzielczej spektrometrii mas oraz danych literaturowych stwierdzono występowanie w wyłokach aronii związków z grupy między innymi kwasów fenolowych, flawonoli i antocyjanów. Wstępnie przypisano również struktury chemiczne dla kilku metabolitów, które do tej pory nie zostały zidentyfikowane w owocach aronii.
3. Dodatek frakcji 2 ekstraktu z wyłoków aronii na poziomie 0,5%–1,5% do chitozanowych osłonek pozwolił na uzyskanie innowacyjnych chitozanowych osłonek o podwyższonych właściwościach użytkowych. Na podstawie obliczonych kosztów wytworzenia osłonek chitozanowych stwierdzono, że każdorazowy wzrost dodatku frakcji drugiej o 0,5 punktu procentowego powoduje wzrost kosztów wytworzenia osłonki o 5%.

4. Chitozanowe osłonki jadalne zostały ocenione przez przedsiębiorców z badanych branż, głównie przez producentów folii i osłonek oraz producentów owoców i warzyw z dużych i średnich przedsiębiorstw, jako innowacja ekologiczna i technologiczna, która powinna promować gospodarkę o obiegu zamkniętym i współtworzyć ekologiczne oraz pozbawione odpadów środowisko. Cechy prozdrowotne osłonek, wynikające między innymi z zastosowania dodatku wyłoków aronii, które charakteryzują się wysoką zawartością związków fenolowych i antocyjanów oraz wysokim potencjałem przeciwutleniającym, mogą zwiększać konkurencyjność przedsiębiorstw działających na rynku żywności, decydujących się na wdrożenie tej innowacji.

Opracowane techniczne koncepcje eksperymentalnych chitozanowych osłonek jadalnych z dodatkiem ekstraktu z wyłoków aronii mogą stanowić ciekawą, innowacyjną alternatywę dla syntetycznych osłonek, pozwalającą na ograniczenie marnowania żywności, zapewniającą bezpieczeństwo oraz przedłużającą trwałość żywności. Wskazanie optymalnej ilości dodatku frakcji drugiej ekstraktu z wyłoków aronii jest złożonym procesem, w którym trzeba wziąć pod uwagę takie czynniki jak rodzaj produktu, który ma zostać powleczony osłonką, formę aplikacji osłonki, cechy organoleptyczne czy przewidywany okres przedłużenia trwałości produktu. Przeprowadzone badania mogą stanowić punkt wyjścia do kolejnych badań dotyczących opracowania i oceny prototypów osłonek jadalnych dla wybranych produktów żywnościowych.

Planowane są dalsze badania polegające na opracowaniu metod aplikacji zaprojektowanych prototypów osłonek jadalnych na wybrane grupy produktów żywnościowych. Istotnym kierunkiem badań jest też wskazanie zakresu zachodzących zmian w jakości sensorycznej i ocenie konsumenckiej oraz właściwościach przeciwdrobnoustrojowych powleczonych produktów w zależności od zastosowanego dodatku frakcji 2 ekstraktu z wyłoków aronii.





Załączniki

Załącznik 1

Tabela Z1. Metabolity wstępnie zidentyfikowane we frakcjach ekstraktu z wytloków aronii odmiany Nero, wyizolowanych na złożach LiChrorep i poliamidowym

Numer	Czas retencji (min)	Nazwa metabolitu	Masa jonizacji ujemna	Masa jonizacji dodatnia	Skład elementarny	Δppm	Fragmentacja jonizacji	Źródło identyfikacji
1	12,7	Kwas chlorogenowy / neochlorogenowy	353,0878	–	$C_{16}H_{17}O_9$	3,0886	MS ² [353]: 191, 179, 135 MS ³ [353→191]: 127, 111, 85	J.E. Lee i in. (2014)
2	18,5	Hex-galokatechina	467,1178	–	$C_{21}H_{23}O_{12}$	0,2650	MS ² [467]: 449, 431, 371, 347, 305 MS ³ [467→449]: 431, 413, 395, 383, 353, 329, 299, 269 MS ⁴ [449→431]: 413, 383, 353, 299 MS ⁵ [431→353]: 325, 267	Nowy metabolit w aronii: MS/MS MS HR: $C_{15}H_{13}O_7$ 305,0650 (-3,598)
3	23,0	Hex-Hex-kwercetyna	625,1434	–	$C_{27}H_{29}O_{17}$	2,5847	MS ² [625]: 505, 445, 355, 301, 271 MS ³ [625→301]: 271, 215, 179, 151	Tian i in. (2017)
4	23,5	Pen-Hex-kwercetyna	595,1671	–	$C_{26}H_{27}O_{16}$	2,2116	MS ² [595,1671]: 463, 343, 301 MS ³ [595,1671→301]: 255, 151	J.E. Lee i in. (2014)
5	24,4	Pen-Hex-kwercetyna	–	597,1451	$C_{26}H_{29}O_{16}$	2,4589	MS ² [597,1451]: 465, 303, 199 MS ³ [597,1451→303]: 259	J.E. Lee i in. (2014)
6	24,6	MeHex-eriodictyol	–	465,1034	$C_{21}H_{21}O_{12}$	1,3821	MS ² [465]: 447, 429, 392, 355, 289 MS ³ [465→289]: 271, 179, 153 MS ⁴ [289→153]: 85, 67	Nowy metabolit w aronii: MS HR: $C_{15}H_{13}O_6$ 289,0721 (5,1162) Owoc głogu: Tian i in. (2017)
7	24,9	dHex-Hex-kwercetyna	609,1458	–	$C_{27}H_{29}O_{16}$	0,2158	MS ² [609,1458]: 343, 301, 271, 179 MS ³ [609,1458→301]: 271, 225, 179, 151	J.E. Lee i in. (2014)
8	26,2	Hex-kwercetyna	–	465,1028	$C_{21}H_{21}O_{12}$	1,3128	MS ² [465,1028]: 303 MS ³ [465,1028→303]: 257, 229, 153, 111	J.E. Lee i in. (2014)

9	26,9	dHex-Pen-izoram- netyna	623,1634	–	$C_{28}H_{31}O_{16}$	2,6090	MS^2 [623,1634]: 315, 271 MS^3 [623,1634→315,0510]: 299, 271	J.E. Lee i in. (2014)
10	27,2	dHex-Hex-petuni- dyna	–	625,1409	$C_{28}H_{33}O_{16}$	2,0827	MS^2 [625,1409]: 479, 317, 285, 245 MS^3 [625,1409→317,0306]: 301, 285, 257, 213	Nowy metabolit w aronii: MS HR: $C_{16}H_{13}O_7$ 317,0306 (-3,7411) Owoce jagodowe: Veberic i in. (2015)
11	27,6	Hex-cyjaniidyna	–	449,1071	$C_{21}H_{21}O_{11}$	-2,8268	MS^2 [449]: 287 MS^3 [449→287]: 231, 147	X. Wu i in. (2004)
12	28,4	Malonylo-gluko- zyd- delifmidyny	–	551,1037	$C_{24}H_{23}O_{15}$	1,0024	MS^2 [551,1037]: 533, 303 MS^3 [551,1037→303,0499]: 257, 229, 165	Nowy metabolit w aronii: MS HR: $C_{15}H_{11}O_7$ 303,0499 (-1,9212) Owoce jagodowe: Veberic i in. (2015)
13	28,4	Pen-kwercetyna	–	433,0783	$C_{20}H_{17}O_{11}$	4,0879	MS^2 [433]: 343, 301, 271, 179, 151 MS^3 [433→301]: 271, 255, 179, 151	Nowy metabolit w aronii: MS HR: $C_{15}H_8O_7$ 300,0277 (2,3582)
14	29,0	Cynaryna	515,1184	–	$C_{23}H_{23}O_{12}$	3,2102	MS^2 [515]: 353, 191 MS^3 [515→353]: 191	J.E. Lee i in. (2014)
Frakcja 1 wyizolowana na złoże poliamidowym								
1	11,1	Hex-Hex-cyjani- dyna	–	611,1614	$C_{27}H_{31}O_{16}$	1,1713	MS^2 [611]: 535, 449, 287 MS^3 [611→449]: 287	Nowy metabolit w aronii: MS HR: $C_{15}H_{11}O_6$ 287,0548 (-3,4750) Owoce jagodowe: Veberic i in. (2015)
2	11,5	Pen-Hex-cyjani- dyna	–	581,1505	$C_{20}H_{29}O_{15}$	0,6112	MS^2 [581]: 449, 419, 287	Nowy metabolit w aronii: MS HR: $C_{15}H_{11}O_6$ 287,0550 (-1,4582) Owoce jagodowe: Veberic i in. (2015)

Numer	Czas retencji (min)	Nazwa metabolitu	Masa jonizacji ujemna	Masa jonizacji dodatnia	Skład elementarny	Δppm	Fragmentacja jonizacji	Źródło identyfikacji
3	13,8	Hex-cyjanidyna	–	449,1084	$C_{21}H_{21}O_{11}$	-3,1665	MS^2 [449]: 287 MS^3 [449→287]: 201, 115	Oszmiański i Wojsdyło (2005)
4	14,8	Hex-kaempferol	447,0933	–	$C_{21}H_{19}O_{11}$	2,4703	MS^2 [447]: 285, 241 MS^3 [447→285]: 241, 223, 175, 147	Nowy metabolit w aronii: MS/MS MS HR: $C_{15}H_{13}O_6$ 284,0326 (3,8159)
5	15,1	Pen-cyjanidyna	–	419,0969	$C_{20}H_{19}O_{10}$	-2,2149	MS^2 [419]: 287 MS^3 [419→287]: 217, 149	X. Wu i in. (2004)
6	19,2	Pen-galokatechina	–	437,1074	$C_{20}H_{21}O_{11}$	-1,0912	MS^2 [437]: 419, 305 MS^3 [437→305]: 287, 179, 137	Nowy metabolit w aronii: MS/MS MS HR: $C_{15}H_{13}O_7$ 305,0652 (-1,0903)
7	20,7	Pen-cyjanidyna	–	419,0969	$C_{20}H_{19}O_{10}$	-0,9792	MS^2 [419]: 287	X. Wu i in. (2004)
8	20,7	Hex-cyjanidyna	–	449,1072	$C_{21}H_{21}O_{11}$	-3,0306	MS^2 [449]: 287 MS^3 [449→287]: 259, 231	X. Wu i in. (2004)
9	22,9	Hex-Hex-kwercetyna	–	627,1564	$C_{27}H_{31}O_{17}$	1,3671	MS^2 [627]: 465, 399, 345, 303 MS^3 [627→303]: 247	Tian i in. (2017)
10	24,7	3-rutozyt kwercetyny	609,1467	–	$C_{27}H_{29}O_{16}$	2,1399	MS^2 [609,1467]: 343, 301, 271, 229, 179 MS^3 [609,1467→301]: 271, 179, 151 MS^4 [301→271]: 229	Oszmiański i Wojsdyło (2005)
11	24,7	3-rutozyt delfnidyny	–	611,1605	$C_{27}H_{31}O_{16}$	1,1329	MS^2 [611]: 575, 465, 303 MS^3 [611→303]: 285, 229, 157, 121	Oszmiański i Wojsdyło (2005)

Frakcja 2 wyizolowana na ziołu LiChroprep								
1	17,6	Pen-kaempferol	417,0833	-	$C_{20}H_{17}O_{10}$	2,0051	MS ² [417]: 375, 319, 285 MS ³ [417→285]: 257, 241, 175, 147, 125	Nowy metabolit w aronii: MS/MS MS HR: $C_{15}H_8O_6$ 284,0326 (3,6011) Liście jagodowe: Tian i in. (2017)
2	18,2	Hex-kaempferol	465,1034	-	$C_{21}H_{21}O_{12}$	1,3785	MS ² [465,1034]: 355, 339, 303, 285, 241 MS ³ [465,1034→285]: 241, 217, 199, 149 MS ⁴ [285→241]: 213, 197	Nowy metabolit w aronii: MS/MS MS HR: $C_{15}H_9O_6$ 285,0403 (3,4373)
3	22,9	Niezidentyfikowany	625,1418	-	$C_{43}H_{21}O_4$	-2,6409	MS ² [625]: 505, 445, 409, 343, 299, 271, 179 MS ³ [625→299]: 271, 229, 179	Niezidentyfikowany
4	24,2	Pen-Hex-kwercetyna	595,1312	-	$C_{26}H_{27}O_{16}$	3,0305	MS ² [595]: 463, 445, 427, 343, 301, 271, 255, 179, MS ³ [595→301]: 271, 255, 179, 151	J.E. Lee i in. (2014)
5	26,6	Hex-dHex-izorametyna	623,1625	-	$C_{28}H_{31}O_{16}$	2,6090	MS ² [623]: 489, 357, 315, 271 MS ³ [623→315]: 299, 255, 223, 151 MS ⁴ [315→299]: 271	J.E. Lee i in. (2014)
6	26,9	Pen-dHex-kaempferol	593,1520	-	$C_{27}H_{29}O_{15}$	3,1713	MS ² [593]: 285, 257, 229 MS ³ [593→285]: 255, 189,	Nowy metabolit w aronii: MS/MS MS HR: $C_{15}H_9O_6$ 285,0404 (3,6514) Owoce jagodowe: Tian i in. (2017)
7	27,9	Pen-kwercetyna	433,0783	-	$C_{20}H_{17}O_{11}$	4,0879	MS ² [433]: 343, 301, 271, 179, 151 MS ³ [433→301]: 271, 255, 179, 151, 121	Nowy metabolit w aronii: MS/MS MS HR: $C_{15}H_9O_7$ 301,0354 (3,6235)

Numer	Czas retencji (min)	Nazwa metabolitu	Masa jonizacji ujemna	Masa jonizacji dodatnia	Skład elementarny	Δppm	Fragmentacja jonizacji	Źródło identyfikacji
8	28,8	Cynaryna	515,1201	-	$C_{25}H_{23}O_{12}$	3,2102	MS ² [515]: 353, 339, 191 MS ³ [515→353]: 191, 135	J.E. Lee i in. (2014)
9	33,8	Hex-FerA-kwercecytna	639,1362	-	$C_3H_7O_{15}$	2,7914	MS ² [639,1362]: 463, 445, 301, 271 MS ³ [639,1362→463]: 301, 255 MS ⁴ [463→301]: 179	Nowy metabolit w aronii: MS/MS
10	34,6	Niezidentyfikowany	695,4025	-	$C_{37}H_{59}O_{12}$	3,1336	MS ² [695]: 649, 487 MS ³ [695→487]: 469, 425	Niezidentyfikowany
Frakcja 2 wyizolowana na złożu poliamidowym								
1	11,8	Niezidentyfikowany	465,1039	-	$C_{21}H_{21}O_{12}$	2,4283	MS ² [465]: 339, 285, 241, 199 MS ³ [465→285]: 267, 241, 217, 175, 149 MS ⁴ [285→241]: 213	Niezidentyfikowany
2	13,0	Niezidentyfikowany	819,1620	-	$C_{37}H_{39}O_{21}$	0,2114	MS ² [819]: 743, 639, 501, 465, 353 MS ³ [819→465]: 339, 285, 241	Niezidentyfikowany
3	21,6	Pen-Hex-kwercecytna	595,1312	-	$C_{26}H_{27}O_{16}$	3,3420	MS ² [595]: 343, 301, 271, 179 MS ³ [595→301]: 271, 211, 179, 151, MS ⁴ [301→151]: 107 MS ⁴ [301→179]: 151	Skupień i Oszmianski (2007)
4	23,5	Hex-dHex-kwercecytna	609,1274	-	$C_{27}H_{29}O_{16}$	3,4701	MS ² [609]: 343, 301, 271, 179 MS ³ [609→301]: 271, 255, 239, 211, 179, 151, 121 MS ⁴ [301→179]: 151 MS ⁵ [179→151]: 107	Brazdauskas i in. (2016)
5	31,0	Niezidentyfikowany	707,2553	-	$C_{34}H_{43}O_{16}$	1,0584	MS ² [707]: 657, 561, 543, 415, 397, 269 MS ³ [707→397]: 229 MS ³ [707→561]: 415, 269	Niezidentyfikowany
6	32,4	Niezidentyfikowany	693,3871	-	$C_{37}H_{57}O_{12}$	2,6925	MS ² [693]: 647, 531, 485, 395 MS ³ [693→647]: 485, 441 MS ³ [647→485]: 441	Niezidentyfikowany

7	34,2	Niezidentyfikowany	695,4025	-	$C_{37}H_{59}O_{12}$	2,6981	MS ² [695]: 649, 533, 487, 443 MS ³ [695→487]: 469, 425, 371 MS ⁴ [487→425]: 423, 393	Niezidentyfikowany	
8	39,4	Niezidentyfikowany	693,3871	-	$C_{37}H_{57}O_{12}$	2,6925	MS ² [693]: 647, 603, 531, 485, 467, 415 MS ³ [693→485]: 467, 423, 393, 369	Niezidentyfikowany	
Frakcja 3 wyizolowana na złożu LiChroprep									
1	8,6	Pen-kaempferol	435,0938	-	$C_{20}H_{19}O_{11}$	2,4009	MS ² [435]: 303, 285, 241, 217, 199 MS ³ [435→285]: 251, 217, 199	Nowy metabolit w aronii: MS/MS	
2	37,6	Niezidentyfikowany	503,3383	-	$C_{30}H_{47}O_6$	1,2940	MS ² [503]: 485, 471, 459, 439, 427, 411, 389, 369, 351 MS ³ [503→439]: 421, 411, 395 MS ³ [503→459]: 439, 411	Nowy metabolit w aronii. Niedojrzałe owoce jeżyny: Kim i in. (2011)	
3	44,4	Niezidentyfikowany	489,3518	-	$C_{29}H_{45}O_6$	0,4673	MS ² [489]: 471, 445, 427, 409, 391 MS ³ [489→427]: 409, 391, 379	Niezidentyfikowany	
4	46,0	Niezidentyfikowany	503,3379	-	$C_{30}H_{47}O_6$	1,9322	MS ² [503]: 473, 441, 375 MS ³ [503→473]: 409, 397	Nowy metabolit w aronii. Owoce jeżyny: Kim i in. (2011)	
5	49,6	Niezidentyfikowany	503,3376	-	$C_{30}H_{47}O_6$	1,9322	MS ² [503]: 485, 473, 453, 439, 423, 409, 369, 351 MS ³ [503→369]: 351, 335, 319, 295 MS ⁴ [369→351]: 335, 319 MS ³ [503→409]: 391, 379, 363, 291 MS ⁴ [409→379]: 363	Nowy metabolit w aronii. Owoce jeżyny: Kim i in. (2011)	
6	53,0	Niezidentyfikowany	501,3221	-	$C_{30}H_{45}O_6$	3,7939	MS ² [501]: 483, 457, 439, 419, 373, 353 MS ³ [501→483]: 465, 439, 417, 401, 305	Niezidentyfikowany	
7	55,2	Niezidentyfikowany	501,3223	-	$C_{30}H_{45}O_6$	3,7939	MS ² [501]: 483, 471, 453, 439, 427, 409, 391, 355 MS ³ [501→471]: 423, 409, 379, 355 MS ⁴ [471→453]: 409	Niezidentyfikowany	

Numer	Czas re-tencji (min)	Nazwa metabolitu	Masa jonizacji ujemna	Masa jonizacji dodatnia	Skład elementarny	Δppm	Fragmentacja jonizacji	Źródło identyfikacji
8	56,7	Niezidentyfikowany	503,3376	–	$C_{30}H_{47}O_6$	1,9322	MS ² [503]: 485, 471, 459, 441, 421, 409, 387 MS ³ [503→441]: 421, 403, 361, 303, 291, 265 MS ⁴ [441→421]: 403 MS ³ [503→485]: 441, 417, 387	Niezidentyfikowany
9	59,2	Niezidentyfikowany	487,3430	–	$C_{30}H_{47}O_5$	2,3711	MS ² [487]: 469, 457, 441, 425, 407, 393, 371 MS ³ [487→423]: 405, 393, 377, 305, 289 MS ³ [487→425]: 407, 391, 379, 351, 289 MS ⁴ [425→407]: 391, 375	Niezidentyfikowany
Frakcja 3 wyizolowana na złożu poliamidowym								
1	26,2	dHex-Hex-kwertecyna	609,1458	–	$C_{27}H_{29}O_{16}$	1,8175	MS ² [609]: 463, 301 MS ³ [609→463]: 343, 301, 271 MS ⁴ [463→301]: 271, 179, 151	Brazdauskas i in. (2016)
2	36,4	Niezidentyfikowany	503,3367	–	$C_{30}H_{47}O_6$	2,2132	MS ² [503]: 459, 439, 411, 389, 369 MS ³ [503→369]: 351, 205 MS ⁴ [369→351]: 205	Niezidentyfikowany
3	43,8	Niezidentyfikowany	503,3367	–	$C_{30}H_{47}O_6$	2,2738	MS ² [503]: 485, 457, 441, 393, 375, 359 MS ³ [503→375]: 407, 359	Niezidentyfikowany
4	51,4	Niezidentyfikowany	501,3211	–	$C_{30}H_{45}O_6$	2,6373	MS ² [501]: 483, 457, 439, 419, 373, 353 MS ³ [501→483]: 439, 419, 401, 385	Nowy związek w aronii. Skórki jabłek: Sut i in. (2019)
5	53,8	Niezidentyfikowany	503,3379	–	$C_{30}H_{47}O_6$	2,3938	MS ² [503,3379]: 485, 471, 453 MS ³ [503,3379→471]: 453, 423, 409 MS ⁴ [471→453]: 423, 409 MS ³ [503,3379→483]: 465, 453, 441, 421, 403, 389	Niezidentyfikowany

6	57,1	Niezidentyfikowany	487,3418	–	$C_{30}H_{47}O_5$	1,7449	MS² [487,3418]: 471, 457, 443, 425, 409, 371, 243	Nowy związek w aronii. Tawlina jarzębolistna: C. Wu i in. (2019)
7	58,2	Niezidentyfikowany	487,3418	–	$C_{30}H_{47}O_5$	1,9327	MS² [487,3418]: 469, 457, 439, 409, 391 MS³ [487,3418→457]: 439, 407 MS⁴ [457→469]: 451, 423, 407, 381	Nowy związek w aronii. Tawlina jarzębolistna: C. Wu i in. (2019)
8	58,6	Niezidentyfikowany	517,3524	–	$C_3H_4O_6$	1,5149	MS² [517]: 473, 455, 439, 421, 377 MS³ [517→455]: 439, 421, 393, 377 MS⁴ [455→439]: 421, 393, 379, 243, 177	Nowy związek w aronii. Kuklik zwisły: Lontsi i in. (1987)
9	60,2	Niezidentyfikowany	485,3268	–	$C_{30}H_{45}O_5$	2,2441	MS² [485]: 467, 441, 423, 393, 369 MS³ [485→467]: 437, 423, 405, 393	Nowy związek w aronii. Skórki jabłek: Sut i in. (2019)
10	61,3	Niezidentyfikowany	471,3469	–	$C_{30}H_{47}O_4$	1,7059	MS² [471]: 423, 405	Nowy związek w aronii. Skórki jabłek: Sut i in. (2019)
11	63,9	Niezidentyfikowany	513,3575	–	$C_{32}H_{49}O_5$	1,8454	MS² [513,3575]: 495, 453	Niezidentyfikowany

Objaśnienia: Δppm – błąd pomiaru masy w analizach z wykorzystaniem wysokorozdzielczego spektrometru mas, Hex – heksoza, hHex – uwodniona heksoza, dHex – deoksyheksoza, hdHex – uwodniona deoksyheksoza, Pen – pentoza, hPen – uwodniona pentoza, UrA – kwas uronowy, hUrA – uwodniony kwas uronowy, Me – grupa metylowa, FerA – kwas ferulikowy.

Źródło: Opracowanie własne.

Załącznik 2. Scenariusz wywiadu indywidualnego pogłębionego

Część metryczkowo-ewidencyjna:

Branża			
<input type="checkbox"/> producent folii i osłonek	<input type="checkbox"/> producent owoców i warzyw	<input type="checkbox"/> przetwórcza owoców i warzyw	
Kategoryzacja podmiotu			
<input type="checkbox"/> duże przedsiębiorstwo	<input type="checkbox"/> średnie przedsiębiorstwo	<input type="checkbox"/> małe przedsiębiorstwo	<input type="checkbox"/> mikroprzedsiębiorstwo
Skala działania			
<input type="checkbox"/> regionalna	<input type="checkbox"/> krajowa	<input type="checkbox"/> europejska	<input type="checkbox"/> pozaeuropejska

Obszar 1. Osłonki jadalne – dotychczasowe stosowanie

- Czy spotkali się Państwo z terminem „osłonki jadalne”?
- Z czym Państwu kojarzą się osłonki jadalne?
- O jakich osłonkach jadalnych Państwo słyszeli?
- Jaki rodzaj osłonek jadalnych Państwo stosują w swoim przedsiębiorstwie?
- Czy osłonki jadalne to dobry pomysł, czy zły?

Obszar 2. Chitozanowe osłonki jadalne – innowacyjne rozwiązanie

- Czy uważają Państwo, że chitozanowe osłonki jadalne są dla Państwa innowacją?
- Jakie cechy powinny mieć chitozanowe osłonki jadalne, aby były stosowane przez przedsiębiorstwo?
- Czy w Państwa branży jest możliwość ich stosowania?
- Jeśli nie w Państwa branży, to kto mógłby być nimi zainteresowany (proszę wskazać inne branże)?

Obszar 3. Chitozanowe osłonki jadalne – silne i słabe strony, potencjalne zastosowanie

- Jak są oceniane silne strony rozwoju chitozanowych osłonek jadalnych z dodatkiem ekstraktu z wyłoków aronii?
- Jak są oceniane słabe strony w rozwoju chitozanowych osłonek jadalnych z dodatkiem ekstraktu z wyłoków aronii?
- Jak widzą Państwo akceptowalność przez konsumentów tego rozwiązania?
- Jak jest oceniany rozwój chitozanowych osłonek jadalnych o dodatkowych cechach prozdrowotnych?





Bibliografia

- Ahrne, L. M., Pereira, N. R., Staack, N. i Floberg, P. (2007). Microwave convective drying of plant foods at constant and variable microwave power. *Drying Technology*, 25(7–8), 1149–1153. <https://doi.org/10.1080/07373930701438436>
- AIJN European Fruit Juice Association. (2019). *Market report*. <https://www.aijn2019report.com/aijn2019report/homepage>
- Aljawish, A., Desobry, S., Muniglia, L., Klouj, A., Jasniewski, J. i Scher, J. (2016). Characterization of films based on enzymatically modified chitosan derivatives with phenol compounds. *Food Hydrocolloids*, 60, 551–558. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2016.04.032>
- Altaf, U., Rouf, A., Kanojia, V., Ayaz, Q. i Zargar, I. (2018). Ultrasound treatment: A novel processing technique for food preservation. *The Pharma Innovation Journal*, 7(2), 234–241. <https://www.thepharmajournal.com/archives/2018/vol7issue2/PartD/7-2-16-193.pdf>
- Amaya-Cruz, D. M., Rodríguez-González, S., Pérez-Ramírez, I. F., Loarca-Piña, G., Amaya-Llano, S., Gallegos-Corona, M. A. i Reynoso-Camacho, R. (2015). Juice by-products as a source of dietary fibre and antioxidants and their effect on hepatic steatosis. *Journal of Functional Foods*, 17, 93–102. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2015.04.051>
- Aschoff, J. K., Rolke, C. L., Breusing, N., Bosity-Westphal, A., Högel, J., Carle, R. i Schweiggert, R. M. (2015). Bioavailability of β -cryptoxanthin is greater from pasteurized orange juice than from fresh oranges – a randomized cross-over study. *Molecular Nutrition & Food Research*, 59(10), 1896–1904. <https://doi.org/10.1002/mnfr.201500327>
- ASTM International. (2013). *Standard test method for oxygen headspace analysis of packages using fluorescent decay* (ASTM F2714-08).
- ASTM International. (2015). *Standard test method for oxygen gas transmission rate through plastic film and sheeting using a dynamic accumulation method* (ASTM F3136-15).
- Azmir, J., Zaidul, I. S. M., Rahman, M. M., Sharif, K. M., Mohamed, A., Sahena, F., Jahurul, M. H. A., Ghafoor, K., Norulaini, N. A. N. i Omar, A. K. M. (2013). Techniques for extraction of bioactive compounds from plant materials – A review. *Journal of Food Engineering*, 117(4), 426–436. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2013.01.014>
- Azwanida, N. N. (2015). A review on the extraction methods use in medicinal plants, principle, strength and limitation. *Medicinal & Aromatic Plants*, 4(3), 1–6. <https://doi.org/10.4172/2167-0412.1000196>

- Bajić, M., Jalšovec, H., Travan, A., Novak, U. i Likozar, B. (2019). Chitosan-based films with incorporated supercritical CO₂ hop extract: Structural, physicochemical, and antibacterial properties. *Carbohydrate Polymers*, 219, 261–268. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2019.05.003>
- Balansky, R., Ganchev, G., Iltcheva, M., Kratchanova, M., Denev, P., Kratchanov, C., Polasa, K., D'Agostini, F., Steele, V. E. i De Flora, S. (2012). Inhibition of lung tumor development by berry extracts in mice exposed to cigarette smoke. *International Journal of Cancer*, 131(9), 1991–1997. <https://doi.org/10.1002/ijc.27486>
- Baldwin, C. J. (2015). *The 10 principles of food industry sustainability*. John Wiley & Sons. <https://doi.org/10.1002/9781118447697>
- Barrena, R. i Sanchez, M. (2013). Neophobia, personal consumer values and novel food acceptance. *Food Quality and Preference*, 27(1), 72–84. <https://doi.org/10.1016/j.foodqual.2012.06.007>
- Belwal, T., Dhyani, P., Bhatt, I. D., Rawal, R. S. i Pande, V. (2016). Optimization extraction conditions for improving phenolic content and antioxidant activity in *Berberis asiatica* fruits using response surface methodology (RSM). *Food Chemistry*, 207, 115–124. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.03.081>
- Bermudez-Soto, M. J., Larrosa, M., Garcia-Cantalejo, J., Espin, J. C., Tomas-Barberan, F. A. i Garcia-Conesa, M. T. (2007). Transcriptional changes in human Caco-2 colon cancer cells following exposure to a recurrent non-toxic dose of polyphenol-rich chokeberry juice. *Genes & Nutrition*, 2(1), 111–113. <https://doi.org/10.1007/s12263-007-0026-5>
- Bi, F., Zhang, X., Bai, R., Liu, Y., Liu, J. i Liu, J. (2019). Preparation and characterization of antioxidant and antimicrobial packaging films based on chitosan and proanthocyanidins. *International Journal of Biological Macromolecules*, 134, 11–19. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.05.042>
- Białek, M., Rutkowska, J. i Hallman, E. (2012). Aronia czarnoowocowa (*aronia melanocarpa*) jako potencjalny składnik żywności funkcjonalnej. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 19(6), 21–30. https://www.researchgate.net/publication/234130283_Aronia_czarnoowocowa_Aronia_melanocarpa_jako_potencjalny_skladnik_zywnosci_funkcjonalnej
- Białek-Jaworska, A., Ziemiński, M. i Zięba, D. (b.d.). *Innowacyjność polskich przedsiębiorstw. Działalność badawczo-rozwojowa i współpraca nauki z biznesem*. <https://www.delab.uw.edu.pl/publikacje/innowacyjnosc-polskich-przedsiębiorstw-działalnos-c-badawczo-rozwojowa-i-wspolpraca-nauki-z-biznesem/>
- Bober, I. i Oszmiański, J. (2004). Zastosowanie wyłoków aronii do naparów herbat owocowych. *Acta Scientiarum Polonorum Technologia Alimentaria*, 3(1), 63–72. <http://www.acta.media.pl/pl/action/getfull.php?id=541>
- Bobinaite, R., Viskelis, P., Bobinas, C., Mieželiene, A., Alenčikiene, G. i Venskutonis, P. V. (2016). Raspberry marc extracts increase antioxidative potential, ellagic acid, ellagitannin and anthocyanin concentrations in fruit purees. *LWT – Food Science and Technology*, 66, 460–467. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.10.069>
- Bochentyn, B. i Kusz, B. (2014). Wiedza ogólna o eksperymencie naukowym. *LAB Laboratoria, Aparatura, Badania*, 6, 34–40.

- Borowska, S. i Brzóska, M. M. (2016). Chokeberries (*Aronia melanocarpa*) and their products as a possible means for the prevention and treatment of noncommunicable diseases and unfavorable health effects due to exposure to xenobiotics. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 15(6), 982–1017. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12221>
- Brazdauskas, T., Montero, L., Venskutonis, P. R., Ibañez, E. i Herrero, M. (2016). Downstream valorization and comprehensive two-dimensional liquid chromatography-based chemical characterization of bioactives from black chokeberries (*Aronia melanocarpa*) pomace. *Journal of Chromatography A*, 1468, 126–135. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2016.09.033>
- Broncel, M., Koziróg, M., Duchnowicz, P., Koter-Michalak, M., Sikora, J. i Chojnowska-Jezierska, J. (2010). *Aronia melanocarpa* extract reduces blood pressure, serum endothelin, lipid, and oxidative stress marker levels in patients with metabolic syndrome. *Medical Science Monitor*, 16(1), CR28–34. Pobrane z <https://www.medsicmonit.com/download/index/idArt/878315>
- Castañeda-Ovando, A., Pacheco-Hernandez, M. L., Paez-Hernandez, M. E., Rodriguez, J. A. i Galan-Vidal, C. A. (2009). Chemical studies of anthocyanins: A review. *Food Chemistry*, 113(4), 859–871. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.09.001>
- Celka, Z. i Szkudlarz, P. (2010). Spontaneous occurrence and dispersion of *Aronia × prunifolia* (Marshall) Rehder (Rosaceae) in Poland on the example of the “Bagna” bog complex near Chlebowo (Western Poland). *Acta Societatis Botanicorum Poloniae*, 79(1), 3–42. <https://doi.org/10.5586/asbp.2010.006>
- Červenka, L. (2011). Moisture adsorption characteristics of black currant (*Ribes nigrum* L.), black elderberry (*Sambucus nigra* L.) and chokeberry (*Aronia melanocarpa*, [Mínchx.] Ell.) samples at different temperatures. *Journal of Food Process Engineering*, 34(5), 1419–1434. <https://doi.org/10.1111/j.1745-4530.2009.00507.x>
- Cervera, M. F., Heinämäki, J., de la Paz, N., Lopez, O., Maunu, S. L., Virtanen, T., Virtanen, T., Hatanpää, T., Antikainen, O., Nogueira, A., Fuindora, J. i Yliruusi, J. (2011). Effects of spray drying on physicochemical properties of chitosan acid salts. *AAPS PharmSciTech*, 12(2), 637–649. <https://doi.org/10.1208/s12249-011-9620-3>
- Chacko, C. M. i Estherlydia, D. (2014). Antimicrobial evaluation of jams made from indigenous fruit peels. *International Journal of Advanced Research*, 2(1), 202–207. https://www.journalijar.com/uploads/837_IJAR-2434.pdf
- Chemat, F., Rombaut, N., Sicaire, A. G., Meullemiestre, A., Fabiano-Tixier, A. S. i Abert-Vian, M. (2017). Ultrasound assisted extraction of food and natural products. Mechanisms, techniques, combinations, protocols and applications. A review. *Ultrasonics Sonochemistry*, 34, 540–560. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2016.06.035>
- Chen, C., Nie, Z., Wan, C. i Chen, J. (2019). Preservation of Xinyu tangerines with an edible coating using *Ficus hirta* Vahl. fruits extract-incorporated chitosan. *Biomolecules*, 9(2), 46. <https://doi.org/10.3390/biom9020046>
- Chen, S., Meng, X., Wang, Y. i Sun, X. (2018). Antioxidant activity and optimisation of ultrasonic-assisted extraction by response surface methodology of *Aronia melanocarpa* anthocyanins. *Matrix Science Pharma*, 2, 6–9. <https://doi.org/10.26480/msp.01.2018.06.09>

- Cheng, C. L. i Hong, G. B. (2018). Optimization of extraction process for bioactive compounds from *Litsea cubeba* fruits. *Korean Journal of Chemical Engineering*, 35(1), 187–194. <https://doi.org/10.1007/s11814-017-0251-6>
- Cheok, C. Y., Salman, H. A. K. i Sulaiman, R. (2014). Extraction and quantification of saponins: A review. *Food Research International*, 59, 16–40. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2014.01.057>
- Chien, P. J., Sheu, F. i Yang, F. H. (2007). Effects of edible chitosan coating on quality and shelf life of sliced mango fruit. *Journal of Food Engineering*, 78(1), 225–229. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2005.09.022>
- Chrubasik, C., Li, G. i Chrubasik, S. (2010). The clinical effectiveness of chokeberry: a systematic review. *Phytotherapy Research*, 24(8), 1107–1114. <https://doi.org/10.1002/ptr.3226>
- CIE International Commission on Illumination. (2019). *Colorimetry — Part 4: CIE 1976 L*a*b* colour space (ISO/CIE 11664-4:2019)*.
- Collins, R. A., Ng, T. B., Fong, W. P., Wan, C. C. i Yeung, H. W. (1998). Removal of polyphenolic compounds from aqueous plant extracts using polyamide minicolumns. *Biochemistry and Molecular Biology International*, 45(4), 791–796. <https://doi.org/10.1080/15216549800203212>
- Cutter, C. N. (2006). Opportunities for bio-based packaging technologies to improve the quality and safety of fresh and further processed muscle foods. *Meat Science*, 74(1), 131–142. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2006.04.023>
- Cvetković, D., Stanojević, L., Zvezdanović, J., Savić, S., Ilić, D. i Karabegović, I. T. (2018). Aronia leaves at the end of harvest season – Promising source of phenolic compounds, macro- and microelements. *Scientia Horticulturae*, 239, 17–25. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2018.05.015>
- Cyfert, S. i Mielcarek, P. (2010). Proces kształtowania systemu zarządzania innowacjami w przedsiębiorstwie. W: S. Lachiewicz i A. Zakrzewska-Bielawska (red.), *Zarządzanie wiedzą i innowacjami we współczesnych organizacjach* (s. 212–225). Wydawnictwo Politechniki Łódzkiej.
- Czapski, J. i Walkowiak-Tomczak, D. (2008). Kinetics of anthocyanin colour changes during heating solutions of chokeberry, encyanin and elderberry pigments. *Acta Agrophysica*, 12(3), 625–636. <http://www.acta-agrophysica.org/Kinetics-of-anthocyanin-colour-changes-during-heating-solutions-of-chokeberry-encyanin,107503,0,2.html>
- Derrien, M., Badr, A., Gosselin, A., Desjardins, Y. i Angers, P. (2017). Optimization of a green process for the extraction of lutein and chlorophyll from spinach by-products using response surface methodology (RSM). *LWT – Food Science and Technology*, 79, 170–177. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.01.010>
- Drucker, P. F. (1992). *Innowacja i przedsiębiorczość. Praktyka i zasady*. Państwowe Wydawnictwo Ekonomiczne.
- Dulf, F. V., Andrei, S., Bunea, A. i Socaciu, C. (2012). Fatty acid and phytosterol contents of some Romanian wild and cultivated berry pomaces. *Chemical Papers*, 66(10), 925–934. <https://doi.org/10.2478/s11696-012-0156-0>
- Dyrektywa Parlamentu Europejskiego i Rady 2008/98/WE z dnia 19 listopada 2008 r. w sprawie odpadów oraz uchylająca niektóre dyrektywy (Dz.U. UE z 2008 r. Nr 312).

- EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies. (2011). Scientific opinion on the substantiation of health claims related to chitosan and reduction in body weight (ID 679, 1499), maintenance of normal blood LDL-cholesterol concentrations (ID 4663), reduction of intestinal transit time (ID 4664) and reduction of inflammation (ID 1985) pursuant to Article 13(1) of Regulation (EC) No 1924/2006. *EFSA Journal*, 9(6), 2214. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2011.2214>
- Ellen MacArthur Foundation. (b.d.). *Infographic. Circular Economy System Diagram*. <https://www.ellenmacarthurfoundation.org/circular-economy/concept/infographic>
- Ellen MacArthur Foundation. (2013). *Towards the circular economy: Economic and business rationale for an accelerated transition*. https://kidv.nl/media/rapportages/towards_a_circular_economy.pdf?1.2.1
- Esclapez, M. D., Garcia-Perez, J. V., Mulet, A. i Carcel, J. A. (2011). Ultrasound-assisted extraction of natural products. *Food Engineering Reviews*, 3(2), 108–120. <https://doi.org/10.1007/s12393-011-9036-6>
- Espin, J. C., Soler-Rivas, C., Wichers, H. J. i Garcia-Viguera, C. (2000). Anthocyanin-based natural colorants: A new source of antiradical activity for foodstuff. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(5), 1588–1592. <https://doi.org/10.1021/jf9911390>
- European Innovation Scoreboard. (2020). *European Innovation Scoreboard 2020 – main report*. <https://ec.europa.eu/docsroom/documents/42981>
- Eurostat. (2019). *Waste statistics/pl. Statistics explained*. <https://ec.europa.eu/eurostat/statistics-explained/pdfscache/14286.pdf>
- Ferreira, S. L. C., Silva Junior, M. M., Felix, C. S. A., da Silva, D. L. F., Santos, A. S., Santos Neto, J. H., Souza, C. T. de, Cruz, R. A., Jr, i Souza, A. S. (2017). Multivariate optimization techniques in food analysis – a review. *Food Chemistry*, 273, 3–8. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.11.114>
- Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). (2013). *Food wastage footprint: Impacts on natural resources. Summary Report*. https://www.researchgate.net/publication/262611961_Food_Wastage_Footprint_Impacts_on_Natural_Resources_Summary_Report
- Fronc, A. i Oszmiański, J. (1994). Pigwowiec i aronia – surowce do produkcji herbat owocowych. *Wiadomości Zielarskie*, 36(1), 19–21.
- Gao, M., Wang, X. L., Gu, M., Su, Z. G., Wang, Y. i Janson, J. C. (2011). Separation of polyphenols using porous polyamide resin and assessment of mechanism of retention. *Journal of Separation Science*, 34(15), 1853–1858. <https://doi.org/10.1002/jssc.201100139>
- Gao, N., Li, B., Chou, S., Yang, P., Li, E., Zhang, Y. (2016). Optimization for ultrasound extraction of polyphenol from Aronia melanocarpa (chokeberry) with antioxidant activity. *Journal of Food Engineering and Technology*, 5, 20–28.
- Garfield, L. (2018, 31 lipca). A Bill Gates-backed edible coating available at Costco could make avocados last twice as long—and it just got a \$70 million boost. *Business Insider*. <https://www.businessinsider.com/costco-bill-gates-apeel-sciences-avocado-2018-6>

- Gengatharan, A., Dykes, G. A. i Choo, W. S. (2015). Betalains: Natural plant pigments with potential application in functional foods. *LWT – Food Science and Technology*, 64(2), 645–649. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.06.052>
- Genskowsky, E., Puente, L. A., Perez-Alvarez, J. A., Fernandez-Lopez, J., Munoz, L. A. i Viuda-Martos, M. (2015). Assessment of antibacterial and antioxidant properties of chitosan edible films incorporated with maqui berry (*Aristotelia chilensis*). *LWT – Food Science and Technology*, 64(2), 1057–1062. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.07.026>
- Georgantelis, D., Blekas, G., Katikou, P., Ambrosiadis, I. i Fletouris, D. J. (2007). Effect of rosemary extract, chitosan and α -tocopherol on lipid oxidation and colour stability during frozen storage of beef burgers. *Meat Science*, 75(2), 256–264. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2006.07.018>
- Gerasopoulos, K., Stagos, D., Petrotos, K., Kokkas, S., Kantas, D., Goulas, P. i Kouretas, D. (2015). Feed supplemented with polyphenolic by product from olive mill waste water processing improves the redox status in blood and tissues of piglets. *Food and Chemical Toxicology*, 86, 319–327. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2015.11.007>
- Giacometti, J., Žauhar, G. i Žuvić, M. (2018). Optimization of ultrasonic-assisted extraction of major phenolic compounds from olive leaves (*Olea europaea* L.) using response surface methodology. *Foods*, 7(9), 149. <https://doi.org/10.3390/foods7090149>
- Gliszczyńska-Świgło, A. (2016). Badanie barwy. W: A. Gliszczyńska-Świgło i E. Sikorska (red.), *Wybrane instrumentalne metody analizy wyrobów i procesów. Materiały do ćwiczeń* (s. 71–84). Wydawnictwo Uniwersytetu Ekonomicznego w Poznaniu.
- Główny Urząd Statystyczny (GUS). (2015). *Ochrona środowiska 2015*. <https://stat.gov.pl/obszary-tematyczne/srodowisko-energia/srodowisko/ochrona-srodowiska-2015,1,16.html>
- Główny Urząd Statystyczny (GUS). (2016a). *Działalność innowacyjna przedsiębiorstw w latach 2013–2015*. <https://stat.gov.pl/obszary-tematyczne/nauka-i-technika-spoleczenstwo-informacyjne/nauka-i-technika/dzialalnosc-innowacyjna-przedsiębiorstw-w-latach-2013-2015,2,14.html>
- Główny Urząd Statystyczny (GUS). (2016b). *Ochrona środowiska 2016*. <https://stat.gov.pl/obszary-tematyczne/srodowisko-energia/srodowisko/ochrona-srodowiska-2016,1,17.html>
- Główny Urząd Statystyczny (GUS). (2017). *Ochrona środowiska 2017*. <https://stat.gov.pl/obszary-tematyczne/srodowisko-energia/srodowisko/ochrona-srodowiska-2017,1,18.html>
- Główny Urząd Statystyczny (GUS). (2019). *Działalność innowacyjna przedsiębiorstw w latach 2016–2018*. <https://stat.gov.pl/obszary-tematyczne/nauka-i-technika-spoleczenstwo-informacyjne/nauka-i-technika/dzialalnosc-innowacyjna-przedsiębiorstw-w-latach-2016-2018,2,17.html>
- Główny Urząd Statystyczny (GUS). (2020). *Produkcja upraw rolnych i ogrodnich w 2019 roku*. <https://stat.gov.pl/obszary-tematyczne/rolnictwo-lesnictwo/uprawy-rolne-i-ogrodnicze/produkcja-upraw-rolnych-i-ogrodnich-w-2019-roku,9,18.html>
- Goldmeyer, B., Penna, N. G., Melo, A. i da Rosa, C. S. (2014). Physicochemical characteristics and technological functional properties of fermented blueberry pomace and their flours. *Revista Brasileira De Fruticultura*, 36(4), 980–987. <https://doi.org/10.1590/0100-2945-380/13>

- Gorinstein, S., Leontowicz, H., Leontowicz, M., Krzemiński, R., Gralak, M., Martin-Belloso, O., Delgado-Licon, E., harvenkit, R., Katrich, E., Park, Y. S., Soon-Teck, J. i Trakhtenberg, S. (2004). Fresh Israeli Jaffa blond (Shamouti) orange and Israeli Jaffa red Star Ruby (Sunrise) grapefruit juices affect plasma lipid metabolism and antioxidant capacity in rats fed added cholesterol. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(15), 4853–4859. <https://doi.org/10.1021/jf040006y>
- Granato, D. i de Araujo Calado, V. M. (2014). The use and importance of design of experiments (DOE) in process modelling in food science and technology. W: D. Granato i G. Ares (Eds.), *Mathematical and statistical methods in food science and technology* (s. 1–18). Wiley-Blackwell.
- Grande-Tovar, C. D., Chaves-Lopez, C., Serio, A., Rossi, C. i Paparella, A. (2018). Chitosan coatings enriched with essential oils: Effects on fungi involve in fruit decay and mechanisms of action. *Trends in Food Science & Technology*, 78, 61–71. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2018.05.019>
- Guil-Guerrero, J. L., Ramos, L., Moreno, C., Zúniga-Paredes, J. C., Carlosama-Yépez, M. i Ruales, P. (2016). Plant-food by-products to improve farm-animal health. *Animal Feed Science and Technology*, 220, 121–135. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2016.07.016>
- Han, J. H. (2014). Edible films and coatings: A review. W: J. H. Han (Ed.), *Innovations in food packaging* (2nd ed., s. 213–255). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/C2011-0-06876-X>
- Hislop, H. i Hill, J. (2011). *Reinventing the wheel: A circular economy for resource security*. Green Alliance. <https://green-alliance.org.uk/wp-content/uploads/2021/11/Reinventing-the-wheel.pdf>
- Iliyaraja, N., Likhith, K. R., Sharath Babu, G. R. i Khanum, F. (2015). Optimisation of extraction of bioactive compounds from *Feronia limonia* (wood apple) fruit using response surface methodology (RSM). *Food Chemistry*, 173, 348–354. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.10.035>
- Ilgami, A., Ghanbarzadeh, S. i Hamishekar, H. (2015). Optimization of the ultrasonic-assisted extraction of phenolic compounds, ferric reducing activity and antioxidant activity of the *Beta vulgaris* using response surface methodology. *Pharmaceutical Sciences*, 21(1), 46–50. <https://doi.org/10.15171/PS.2015.16>
- International Organization for Standardization. (2017). Zarządzanie niezawodnością – Część 3-3: Przewodnik zastosowań – Szacowanie kosztu cyklu życia (PN-EN 60300-3-3:2017-07).
- Ioset, K. N., Nyberg, N., T., Diermen, D. V., Malnoe, P., Hostettmann, K., Shikovd, A., N. i Jaroszewski, J. W. (2011). Metabolic profiling of *Rhodiola rosea* rhizomes by 1H NMR spectroscopy. *Phytochemical Analysis*, 22(2), 158–165. <https://doi.org/10.1002/pca.1262>
- Jakobek, L., Drenjančević, M., Jukić, V. i Šeruga, M. (2012). Phenolic acids, flavonols, anthocyanins and antiradical activity of “Nero”, “Viking”, “Galicianka” and wild chokeberries. *Scientia Horticulturae*, 147, 56–63. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2012.09.006>
- Jakobek, L., Šeruga, M., Medvidović-Kosanović, M. i Novak, I. (2007). Antioxidant activity and polyphenols of aronia in comparison to other berry species. *Agriculturae*

- Conspectus Scientificus*, 72(4), 301–306. <https://acs.agr.hr/acs/index.php/acs/article/view/68>
- Jao, D., Xue, Y., Medina, J. i Hu, X. (2017). Protein-based drug-delivery materials. *Materials*, 10(5), 517. <https://doi.org/10.3390/ma10050517>
- Jeszka, M., Flaczyk, E., Kobus-Cisowska, J. i Dziedzic, K. (2010). Związki fenolowe – charakterystyka i znaczenie w technologii żywności. *Nauka Przyroda Technologie*, 4(2), 19. http://www.npt.up-poznan.net/pub/art_4_19.pdf
- Jeszka-Skowron, M., Flaczyk, E., Kobus-Cisowska, J., Kośmider, A. i Górecka, D. (2014). Optymalizacja procesu ekstrakcji związków fenolowych o aktywności przeciwnadkwasotwórczej z liści morwy białej za pomocą metody płaszczyzny odpowiedzi (RSM). *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 21(1), 148–159. <http://agro.icm.edu.pl/agro/element/bwmeta1.element.agro-67bd5694-98d9-4720-be16-3c1db8b92566/c/11.pdf>
- Joglekar, A. M. i May, A. T. (1987). Product excellence through design of experiments. *Cereal Foods World*, 32, 857–868.
- Jurikova, T., Mlcek, J., Skrovankova, S., Sumczynski, D., Sochor, J., Hlavacova, I., Snopek, L. i Orsavova, J. (2017). Fruits of black chokeberry *Aronia melanocarpa* in the prevention of chronic diseases. *Molecules*, 22(6), 944. <https://doi.org/10.3390/molecules22060944>
- Kalaycioglu, Z., Torlak, E., Akin-Evingür, G., Özen, I. i Erim, F. B. (2017). Antimicrobial and physical properties of chitosan films incorporated with turmeric extract. *International Journal of Biological Macromolecules*, 101, 882–888. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.03.174>
- Kapci, B., Neradova, E., Čížkova, H., Voldřich, M., Rajchl, A. i Capanoglu, E. (2013). Investigating the antioxidant potential of chokeberry (*Aronia melanocarpa*) products. *Journal of Food and Nutrition Research*, 52(4), 219–229. https://www.researchgate.net/publication/249314007_Investigating_the_antioxidant_potential_of_chokeberry_Aronia_melanocarpa_products
- Kardum, N., Konić-Ristić, A., Šavikin, K., Spasić, S., Stefanović, A., Ivanišević, J. i Miljković, M. (2014). Effects of polyphenol-rich chokeberry juice on antioxidant/pro-oxidant status in healthy subjects. *Journal of Medicinal Food*, 17(8), 869–874. <https://doi.org/10.1089/jmf.2013.0135>
- Kasapidou, E., Sossidou, E. i Mitlianga, P. (2015). Fruit and vegetable co-products as functional feed ingredients in farm animal nutrition for improved product quality. *Agriculture*, 5(4), 1020–1034. <https://doi.org/10.3390/agriculture5041020>
- Kaya, M., Česonienė, L., Daubaras, R., Leskauskaitė, D. i Zabulione, D. (2016). Chitosan coating of red kiwifruit (*Actinidia melanandra*) for extending of the shelf life. *International Journal of Biological Macromolecules*, 85, 355–360. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2016.01.012>
- Kędzierska, M., Głowacki, R., Czernek, U., Szydłowska-Pazera, K., Potemski, P., Piekarski, J., Jeziorski, A. i Olas, B. (2013). Changes in plasma thiol levels induced by different phases of treatment in breast cancer; the role of commercial extract from black chokeberry. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 372, 47–55. <https://doi.org/10.1007/s11010-012-1444-2>

- Khoo, H. E., Azlan, A., Tang, S. T. i Lim, S. M. (2017). Anthocyanidins and anthocyanins: colored pigments as food, pharmaceutical ingredients, and the potential health benefits. *Food & Nutrition Research*, 61(1). <https://doi.org/10.1080/16546628.2017.1361779>
- Kim, Y. H., Choi, J. H., Rim, H.-K., Kang, H. J., Chang, S. G., Park, J. H., ... Lee, K. T. (2011). 23-Hydroxytormentonic acid and niga-ichigoside fi isolated from *Rubus coreanus* attenuate cisplatin-induced cytotoxicity by reducing oxidative stress in renal epithelial LLC-PK₁ cells. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 34(6), 906–911. <https://doi.org/10.1248/bpb.34.906>
- Kirchherr, J., Reike, D. i Hekkert, M. (2017). Conceptualizing the circular economy: An analysis of 114 definitions. *Resources, Conservation and Recycling*, 127, 221–232. <https://doi.org/10.1016/j.resconrec.2017.09.005>
- Klimczak, E., Rozpara, E. i Król, B. (2011). Rozmieszczenie elagotanin w soku, mięszu i nasionach jako dodatkowe kryterium optymalnego zagospodarowania truskawek. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 18(6), 142–154. http://wydawnictwo.ptz.org/wp-content/uploads/2015/02/142_154_Klimczak.pdf
- Kobus-Cisowska, J., Flaczyk, E., Siger, A. i Kmiecik, D. (2015). Wpływ warunków ekstrakcji na wydajność i skład wybranych ekstraktów z liści zielonych i żółtych miłorzębu dwuklapowego. *Nauka Przyroda Technologie*, 9(1), 9. <https://doi.org/10.17306/J.NPT.2015.1.9>
- Kokot-Stępień, P. (2017). Zarządzanie innowacjami jako źródło konkurencyjności małych i średnich przedsiębiorstw. *Zeszyty Naukowe Politechniki Śląskiej. Organizacja i Zarządzanie*, (114), 221–230.
- Komisja Europejska. (2020). *Pakiet klimatyczno-energetyczny do 2020 roku*. https://ec.europa.eu/clima/policies/strategies/2020_pl
- Kotler, P., Jatusripitak, S. i Maesincee, S. (1999). *Marketing narodów*. Wydawnictwo Profesjonalnej Szkoły Biznesu.
- Kowalska, H., Czajkowska, K., Cichowska, J. i Lenart, A. (2017). What's new in bio-potential of fruit and vegetable by-products applied in the food processing industry. *Trends in Food Science & Technology*, 67, 150–159. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2017.06.016>
- Kozłowicz, K., Sułkowska, M. i Kluza, F. (2011). Powłoki jadalne i ich wpływ na jakość i trwałość owoców i warzyw. *Acta Scientiarum Polonorum. Technica Agraria*, 10(3–4), 35–45. <https://czasopisma.up.lublin.pl/index.php/aspta/article/view/4692/3036>
- Kukuła-Koch, W., Koch, W. i Głowniak, K. (2011). Novel extraction techniques towards the recovery of plant derived secondary metabolites – A review. *Annales Universitatis Mariae Curie-Skłodowska, Sectio DDD, Pharmacia*, 24, 83–94. https://www.researchgate.net/publication/286129135_Novel_extraction_techniques_towards_the_recovery_of_plant_derived_secondary_metabolites_-_A_review
- Kulczycka, J. (red.). (2019). *Gospodarka o obiegu zamkniętym w polityce i badaniach naukowych*. Instytut Gospodarki Surowcami Mineralnymi i Energią Polskiej Akademii Nauk. https://circulareconomy.europa.eu/platform/sites/default/files/the_circular_economy_in_policy_and_scientific_research.pdf
- Kulling, S. E. i Rawel, H. M. (2008). Chokeberry (*Aronia melanocarpa*) – A review on the characteristic components and potential health effects. *Planta Medica*, 74(13), 1625–1634. <https://doi.org/10.1055/s-0028-1088306>

- Kwarciak-Kozłowska, A. i Sławik-Dembiczak, L. (2016). Characterization of the organic fraction of pretreated leachate from old landfill after sonication exposure. *Inżynieria i Ochrona Środowiska*, 19(4), 561–575. <https://doi.org/10.17512/ios.2016.4.10>
- Lancrajan, I. (2012). Aronia melanocarpa, a potential therapeutic agent. *Studia Universitatis "Vasile Goldis"*, Stiintele Vietii, 22(3), 389–394. <http://www.studiauniversitatii.ro/pdf/22-2012/22-3-2012/SU22-3-2012-Lancrajan.pdf>
- Lawrie, G., Keen, I., Drew, B., Chandler-Temple, A., Rintoul, L., Fredericks, P. i Grøndahl, L. (2007). Interactions between alginate and chitosan biopolymers characterized using FTIR and XPS. *Biomacromolecules*, 8(8), 2533–2541. <https://doi.org/10.1021/bm070014y>
- Lee, J. E., Kim, G. S., Park, S., Kim, Y. H., Kim, M. B., Lee, W. S., Jeong, S. W., Lee, S. J., Jin, J. S. i Shin, S. C. (2014). Determination of chokeberry (*Aronia melanocarpa*) polyphenol components using liquid chromatography-tandem mass spectrometry: Overall contribution to antioxidant activity. *Food Chemistry*, 146, 1–5. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.09.029>
- Lee, J. W., Lee, H. H. i Rhim, J. W. (2000). Shelf life extension of white rice cake and wet noodle by the treatment with chitosan. *Korean Journal of Food Science and Technology*, 32(4), 828–833.
- Li, J., Deng, Y., Yuan, C., Pan, L., Chai, H., Keller, W. J. i Kinghorn, A. D. (2012). Antioxidant and quinone reductase-inducing constituents of black chokeberry (*Aronia melanocarpa*) fruits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60(46), 11551–11559. <https://doi.org/10.1021/jf303712e>
- Liu, J., Willför, S. i Xu, C. (2015). A review of bioactive plant polysaccharides: Biological activities, functionalization, and biomedical applications. *Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre*, 5(1), 31–61. <https://doi.org/10.1016/j.bcdf.2014.12.001>
- Liu, Y., She, X. R., Huang, J. B., Liu, M. C. i Zhan, M. E. (2018). Ultrasonic-extraction of phenolic compounds from *Phyllanthus urinaria*: Optimization model and antioxidant activity. *Food Science and Technology*, 38(Suppl. 1), 286–293. <https://doi.org/10.1590/1678-457x.21617>
- Lontsi, D., Sondengam, B. L., Ayafor, J. F. i Connolly, J. D. (1987). Cecropiacic acid, a new pentacyclic A-ring seco triterpenoid from *Musanga cecropioides*. *Tetrahedron Letters*, 28(52), 6683–6686. [https://doi.org/10.1016/S0040-4039\(00\)96945-4](https://doi.org/10.1016/S0040-4039(00)96945-4)
- Lovegrove, A., Edwards, C. H., De Noni, I., Patel, H., El, S. N., Grassby, T., Zielke, C., Ulmius, M., Nilsson, L., Butterworth, P. J., Ellis, P. R. i Shewry, P. R. (2017). Role of polysaccharides in food, digestion, and health. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 57(2), 237–253. <https://doi.org/10.1080/10408398.2014.939263>
- Maniak, B., Wójcik, W., Dobrzański, B., jun. i Rybczyński, R. (2007). Powłoki chitozanolowe w produkcji suszu jabłkowego. W: B. Dobrzański, jun., i L. Mieszkalski (red.), *Właściwości fizyczne suszonych surowców i produktów spożywczych* (s. 15–33). Wydawnictwo Naukowe FRNA.
- Marcinkowski, Ł., Kloskowski, A. i Namieśnik, J. (2015). Nowe rozwiązania metodyczne i techniczne w zakresie techniki mikroekstrakcji do fazy stacjonarnej. *Wiadomości Chemiczne*, 69(9–10), 869–892. <https://www.infona.pl/resource/bwmeta1.element.baztech-be385648-843a-4767-8e16-adce7b75eaf2/content/partContents/e0ea3370-9926-331f-b14d-8c48636356f8>

- Martins, J. T., Cerqueira, M. A. i Vicente, A. A. (2012). Influence of α -tocopherol on physicochemical properties of chitosan-based films. *Food Hydrocolloids*, 27(1), 220–227. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2011.06.011>
- Mayer-Miebach, E., Adamiuk, M. i Behnsnlian, D. (2012). Stability of chokeberry bioactive polyphenols during juice processing and stabilization of a polyphenol-rich material from the by-product. *Agriculture*, 2(3), 244–258. <https://doi.org/10.3390/agriculture2030244>
- McCann, D., Barrett, A., Cooper, A., Crumpler, D., Dalen, L., Grimshaw, K., Kitchin, E., Lok, K., Porteous, L., Prince, E., Sonuga-Barke, E., Warner, J. O. i Stevenson, J. (2007). Food additives and hyperactive behaviour in 3-year-old and 8/9-year-old children in the community: A randomised, double-blinded, placebo-controlled trial. *The Lancet*, 370(9598), 1560–1567. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(07\)61306-3](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(07)61306-3)
- Medina-Meza, I. G. i Ganjyal, G. (2017). Fruit processing by-products: A rich source for bioactive compounds and value added products. W: A. K. Anal (Ed.), *Food processing by-products and their utilization* (s. 11–26). Wiley Blackwell.
- Meng, S., Cao, J., Feng, Q., Peng, J. i Hu, Y. (2013). Roles of chlorogenic acid on regulating glucose and lipids metabolism: A review. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, (1), 801457. <https://doi.org/10.1155/2013/801457>
- Mikołajczyk-Bator, K., Błaszczuk, A., Czyżniewski, M. i Kachlicki, P. (2016). Characterisation and identification of triterpene saponins in the roots of red beets (*Beta vulgaris* L.) using two HPLC-MS systems. *Food Chemistry*, 192, 979–990. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.07.111>
- Montgomery, D. C. (1997). *Introduction to statistical quality control* (3rd ed.). John Wiley & Sons.
- MoreSteam. (b.d.). *Design of Experiments (DOE)*. <https://www.moresteam.com/toolbox/design-of-experiments.cfm>
- Mujtaba, M., Morsi, R. E., Kerch, G., Elsabee, M. Z., Kaya, M., Labidi, J. i Khawar, K. M. (2019). Current advancements in chitosan-based film production for food technology: A review. *International Journal of Biological Macromolecules*, 121, 889–904. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.10.109>
- Mulyono, N. (2017). *Evoware's edible and biodegradable sachets and wraps directly made from seaweed as main material*. <https://challenges.openideo.com/challenge/circular-design/top-ideas/evoware-s-edible-sachets-and-food-wraps-directly-made-from-seaweed-as-main-material>
- National Institutes of Health. Office of Dietary Supplements. (2004, December 4). *Federal register*, 69(179).
- Navarro del Hierro, J., Herrera, T., Garcia-Risco, M. R., Fornari, T., Reglero, G. i Martin, D. (2018). Ultrasound-assisted extraction and bioaccessibility of saponins from edible seeds: quinoa, lentil, fenugreek, soybean and lupin. *Food Research International*, 109, 440–447. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.04.058>
- Nawirska, A., Sokół-Łętowska, A. i Kucharska, A. Z. (2007). Właściwości przeciwtleniające wytoków z wybranych owoców kolorowych. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 14(4), 120–125. http://wydawnictwo.pttz.org/wp-content/uploads/2015/02/11_Nawirska.pdf

- Nawirska, A. i Uklańska, C. (2008). Waste products from fruit and vegetable processing as potential sources for food enrichment in dietary fibre. *Acta Scientiarum Polonorum Technologia Alimentaria*, 7(2), 35–42. https://www.food.actapol.net/pub/3_2_2008.pdf
- Newshehri, J. A., Bhat, Z. A. i Shah, M. Y. (2015). Blessings in disguise: Bio-functional benefits of grape seed extracts. *Food Research International*, 77, 333–348. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2015.08.026>
- Nunthanid, J., Huanbutta, K., Luangtana-Anan, M., Sriamornsak, P., Limmatvapirat, S. i Puttipipatkachorn, S. (2008). Development of time-, pH-, and enzyme-controlled colonic drug delivery using spray-dried chitosan acetate and hydroxypropyl methylcellulose. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 68(2), 253–259. <https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2007.05.017>
- Nurunnabi, M., Revuri, V., Huh, K. M. i Lee, Y. K. (2017). Polysaccharide based nano/microformulation: An effective and versatile oral drug delivery system. W: E. Androne-scu i A. Grumezescu (red.), *Nanostructures for oral medicine* (s. 409–433). <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-47720-8.00015-8>
- Ochmian, I., Dobrowolska, A., Strzelecki, R. i Kozos, K. (2013). Porównanie jakości owoców trzech odmian porzeczki czarnej (*Ribes nigrum* L.) w zależności od ich wielkości. *Folia Pomeranae Universitatis Technologiae Stetinensis. Agricultura, Alimentaria, Piscaria et Zootechnica*, 304(26), 97–106. <http://foliaapz.zut.edu.pl/pdf/files/magazines/1/18/142.pdf>
- Ochmian, I., Grajkowski, J. i Smolik, M. (2012). Comparison of some morphological features, quality and chemical content of four cultivars of chokeberry fruits (*Aronia melanocarpa*). *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 40(1), 253–260. <https://doi.org/10.15835/nbha4017181>
- Olas, B., Kędzierska, M., Wachowicz, B., Stochmal, A., Oleszek, W., Jeziorski, A., Piekarski, J. i Głowacki, R. (2010). Effect of aronia on thiol levels in plasma of breast cancer patients. *Central European Journal of Biology*, 5(1), 38–46. <https://doi.org/10.2478/s11535-009-0064-7>
- Oslo Manual. Zasady gromadzenia i interpretacji danych dotyczących innowacji* (wyd. 3). (2005). OECD/Eurostat.
- Ozsmiański, J. i Wojdyło, A. (2005). Aronia melanocarpa phenolics and their antioxidant activity. *European Food Research and Technology*, 221(6), 809–813. <https://doi.org/10.1007/s00217-005-0002-5>
- Otoni, C. G., Avena-Bustillos, R. J., Azeredo, H. M. C., Lorevice, M. V., Moura, M. R., Mattoso, L. H. C. i McHugh, T. H. (2017). Recent advances on edible films based on fruits and vegetables – A review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 16(5), 1151–1169. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12281>
- Ovaskainen, M. L., Törrönen, R., Koponen, J. M., Sinkko, H., Hellström, J., Reinivuo, H. i Mattila, P. (2008). Dietary intake and major food sources of polyphenols in Finnish adults. *Journal of Nutrition*, 138(3), 562–566. <https://doi.org/10.1093/jn/138.3.562>
- Pachołek, B. (2019). *Produkty uboczne przetwórstwa owoców w projektowaniu żywności*. Wydawnictwo Uniwersytetu Ekonomicznego w Poznaniu.
- Padayachee, A., Day, L., Howella, K. i Gidley, M. J. (2017). Complexity and health functionality of plant cell wall fibers from fruits and vegetables. *Critical Reviews*

- in *Food Science and Nutrition*, 57(1), 59–81. <https://doi.org/10.1080/10408398.2013.850652>
- Pająk, P. (2011). Polimery naturalne w produkcji biodegradowalnych opakowań. *Laboratorium*, 5–6, 51–54.
- Palma, M., Barbero, G. F., Pineiro, Z., Liazid, A., Barroso, C. G., Rostagno, M. A., Prado, J. M. i Meireles, M. A. A. (2013). Extraction of natural products: Principles and fundamental aspects. W: M. A. Rostagno i J. M. Prado (Eds.), *Natural product extraction: principles and applications* (s. 58–88). The Royal Society of Chemistry.
- Parra, A. F. R., Ribotta, P. D. i Ferrero, C. (2015). Apple pomace in gluten-free formulations: effect on rheology and product quality. *International Journal of Food Science and Technology*, 50(3), 682–690. <https://doi.org/10.1111/ijfs.12662>
- Parzonko, A. i Naruszewicz, M. (2016). Cardioprotective effects of Aronia melanocarpa anthocyanins. From laboratory experiments to clinical practice. *Current Pharmaceutical Design*, 22(2), 174–179. <https://doi.org/10.2174/1381612822666151112152143>
- Pavlović, A. N., Brcanović, J. M., Veljković, J. N., Mitić, S. S., Tošić, S. B., Kaličanin, B. M., Kostić, D. A., Đorđević, M. S. i Velimirović, D. S. (2015). Characterization of commercially available products of aronia according to their metal content. *Fruits*, 70(6), 385–393. <https://doi.org/10.1051/fruits/2015038>
- Pawlicka, M. (2018). Niejadalne osłonki przeznaczone do kontaktu z wyrobami mięsnymi, wędlinami oraz serami. Charakterystyka, wymagania prawne, badania. *FoodLex*, 1. <https://www.pfpz.pl/2018-16162>
- Perazzo, K. K. N. C. L., de Vasconcelos Conceição, A. C., dos Santos, J. C. P., de Jesus Assis, D., Souza, C. O. i Druzian, J. I. (2014). Properties and antioxidant action of actives cassava starch films incorporated with green tea and palm oil extracts. *PLoS ONE*, 9(9), e105199. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0105199>
- Perumalla, A. S. i Hettiarachchy, N. S. (2011). Green tea and grape seed extracts — Potential applications in food safety and quality. *Food Research International*, 44(4), 827–839. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.01.022>
- Pieszka, M., Gogol, P., Pietras, M. i Pieszka, M. (2015). Valuable components of dried pomaces of chokeberry, black currant, strawberry, apple and carrot as a source of natural antioxidants and nutraceuticals in the animal diet. *Annals of Animal Science*, 15(2), 475–491. <https://doi.org/10.2478/aoas-2014-0072>
- Plichta, T. (2020). *Rynek owoców i warzyw w sezonie 2019/20*. <http://strefa.agro.pl/rynek-owocow-i-warzyw-sezonie-2019-20-cz-1/>
- Polski Komitet Normalizacyjny. (2000). *Materiały w postaci arkuszy – Oznaczanie szybkości przenikania pary wodnej – Metoda wagowa (mieczkowa)* (PN-ISO 2528:2000).
- Porter, M. E. (2001). *Porter o konkurencji*. Polskie Wydawnictwo Ekonomiczne.
- Pratheeshkumar, P., Son, Y.-O., Wang, X., Divya, S. P., Joseph, B., Hiltron, J. A., Wang, L., Kim, D., Yin, Y., Roy, R. V., Lu, J., Zhang, Z., Wang, Y. i Shi, X. (2014). Cyanidin 3-glucoside inhibits UVB-induced oxidative damage and inflammation by regulating MAP kinase and NF-κB signaling pathways in SKH-1 hairless mice skin. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 280(1), 127–137. <https://doi.org/10.1016/j.taap.2014.06.028>
- Prior, R. L. i Wu, X. (2006). Anthocyanins: Structural characteristics that result in unique metabolic patterns and biological activities. *Free Radical Research*, 40(10), 1014–1028. <https://doi.org/10.1080/10715760600758522>

- Priyadarshi, R., Singh, S., Kumar, S. B., Deeba, F., Kulshreshtha, A. i Negi Y. S. (2018). Chitosan films incorporated with Apricot (*Prunus armeniaca*) kernel essential oil as an active food packaging material. *Food Hydrocolloids*, 85, 158–166. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2018.07.003>
- Puls Biznesu. (2018, 6 sierpnia). *Rośnie rynek żywności funkcjonalnej*. <https://www.pb.pl/rosnie-rynek-zywnosci-funkcjonalnej-936774>
- Qin, Y.-Y., Zhang, Z.-H., Li, L., Yuan, M.-L., Fan, J. i Zhao, T.-R. (2015). Physio-mechanical properties of an active chitosan film incorporated with montmorillonite and natural antioxidants extracted from pomegranate rind. *Journal of Food Science and Technology*, 52(3), 1471–1479. <https://doi.org/10.1007/s13197-013-1137-1>
- Quenea, K., Mathieu, J. i Derenne, S. (2012). Soil lipids from accelerated solvent extraction: Influence of temperature and solvent on extract composition. *Organic Geochemistry*, 44, 45–52. <https://doi.org/10.1016/j.orggeochem.2011.11.009>
- Rabea, E. I., Badawy, M. E. T., Stevens, C. V., Smagghe, G. i Steurbaut, W. (2003). Chitosan as antimicrobial agent: Applications and mode of action. *Biomacromolecules*, 4(6), 1457–1465. <https://doi.org/10.1021/bm034130m>
- Re, R., Pellergini, N., Proteggente, A., Pannala, A. S., Yang, M. i Rice-Ewans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*, 26(9–10), 1231–1231. [https://doi.org/10.1016/s0891-5849\(98\)00315-3](https://doi.org/10.1016/s0891-5849(98)00315-3)
- Rhim, J. W. i Shellhammer, T. H. (2005). Lipid-based edible films and coatings. W: J. H. Han (red.), *Innovations in food packaging* (s. 362–383). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-012311632-1/50053-X>
- Rinaudo, M. (2006). Chitin and chitosan: Properties and applications. *Progress in Polymer Science*, 31(7), 603–632. <https://doi.org/10.1016/j.progpolymsci.2006.06.001>
- Rogers, E. M. (1983). *Diffusion of innovations* (3rd ed.). The Free Press.
- Rogut, A. i Piasecki, B. (2009). Żywność i żywienie w XXI wieku – wizja rozwoju polskiego sektora spożywczego. Przewodnik metodologiczny. http://zywnoscizywienie.spoleczna.pl/pdf/raport_zz_2_przewodnik_metodologiczny.pdf
- Romanik, G., Gilgenast, E., Przyjazny, A. i Kamiński, M. (2007). Techniques of preparing plant material for chromatographic separation and analysis. *Journal of Biochemical and Biophysical Methods*, 70(2), 253–261. <https://doi.org/10.1016/j.jbbm.2006.09.012>
- Rop, O., Mlcek, J., Jurikova, T., Valsikova, M., Sochor, J., Reznicek, V. i Kramarova, D. (2010). Phenolic content, antioxidant capacity, radical oxygen species scavenging and lipid peroxidation inhibiting activities of extracts of five black chokeberry (*Aronia melanocarpa* (michx.) elliot) cultivars. *Journal of Medicinal Plants Research*, 22(4), 2432–2437. Pobrane z https://academicjournals.org/article/article1387885201_Rop%20et%20al.pdf
- Rozporządzenie Komisji (UE) nr 651/2014 z dnia 17 czerwca 2014 r. uznające niektóre rodzaje pomocy za zgodne z rynkiem wewnętrznym w zastosowaniu art. 107 i 108 Traktatu (Dz.U. UE z 2014 r., Nr 187).
- Rozporządzenie Komisji (WE) nr 450/2009 z dnia 29 maja 2009 r. w sprawie aktywnych i inteligentnych materiałów i wyrobów przeznaczonych do kontaktu z żywnością (Dz.U. UE z 2009 r., Nr 135).

- Rozporządzenia Ministra Środowiska z dnia 22 października 2013 r. w sprawie przykładowego wykazu wyrobów, które uznaje się albo nie uznaje się za opakowanie (Dz.U. z 2013 r., poz. 1274).
- Rozporządzenie Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) nr 1333/2008 z dnia 16 grudnia 2008 r. w sprawie dodatków do żywności (Dz.U. UE z 2008 r., Nr 354).
- Rozporządzenie Parlamentu Europejskiego i Rady (UE) nr 1169/2011 z dnia 25 października 2011 r. w sprawie przekazywania konsumentom informacji na temat żywności, zmiany rozporządzeń Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) nr 1924/2006 i (WE) nr 1925/2006 oraz uchylenia dyrektywy Komisji 87/250/EWG, dyrektywy Rady 90/496/EWG, dyrektywy Komisji 1999/10/WE, dyrektywy 2000/13/WE Parlamentu Europejskiego i Rady, dyrektyw Komisji 2002/67/WE i 2008/5/WE oraz rozporządzenia Komisji (WE) nr 608/2004 (Dz.U. UE z 2011 r., Nr 304).
- Rozporządzenie (WE) nr 258/97 Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 27 stycznia 1997 r. dotyczące nowej żywności i nowych składników żywności (Dz.U. UE z 1997 r., Nr 43).
- Rozporządzenie (WE) nr 178/2002 Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 28 stycznia 2002 r. ustanawiające ogólne zasady i wymagania prawa żywnościowego, powołujące Europejski Urząd ds. Bezpieczeństwa Żywności oraz ustanawiające procedury w zakresie bezpieczeństwa żywności (Dz.U. UE z 2002 r., Nr 31).
- Rozporządzenie (WE) nr 852/2004 Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 29 kwietnia 2004 r. w sprawie higieny środków spożywczych (Dz.U. UE z 2004 r., Nr 139).
- Rozporządzenie (WE) nr 853/2004 Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 29 kwietnia 2004 r. ustanawiające szczególne przepisy dotyczące higieny w odniesieniu do żywności pochodzenia zwierzęcego (Dz.U. UE z 2004 r., Nr 139).
- Rozporządzenie (WE) nr 854/2004 Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 29 kwietnia 2004 r. ustanawiające szczególne przepisy dotyczące organizacji urzędowych kontroli w odniesieniu do produktów pochodzenia zwierzęcego przeznaczonych do spożycia przez ludzi (Dz.U. UE z 2004 r., Nr 139).
- Rozporządzenie (WE) nr 1935/2004 Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 27 października 2004 r. w sprawie materiałów i wyrobów przeznaczonych do kontaktu z żywnością oraz uchylające dyrektywy 80/590/EWG i 89/109/EWG (Dz.U. UE z 2004 r., Nr 338).
- Rozporządzenie (WE) nr 1924/2006 Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 20 grudnia 2006 r. w sprawie oświadczeń żywieniowych i zdrowotnych dotyczących żywności (Dz.U. UE z 2006 r., Nr 404).
- Rubilar, J. F., Cruz, R. M. S., Silva, H. D., Vicente, A. A., Khmelinskii, I. i Vieira, M. C. (2013). Physico-mechanical properties of chitosan films with carvacrol and grape seed extract. *Journal of Food Engineering*, 115(4), 466–474. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2012.07.009>
- Rutkowski, I. P. (2016). *Metody innowacji produktu. Macierzowo-sieciowe metody pomiaru dojrzałości procesu innowacji produktu*. Wydawnictwo Uniwersytetu Ekonomicznego w Poznaniu.
- Sady, S., Matuszak, L. i Błaszczuk, A. (2019). Optimisation of ultrasonic-assisted extraction of bioactive compounds from chokeberry pomace using response surface meth-

- odology. *Acta Scientiarum Polonorum Technologia Alimentaria*, 18(3), 249–256. <https://doi.org/10.17306/J.AFS.2019.0673>
- Sagoo, S., Board, R. i Roller, S. (2002). Chitosan inhibits growth of spoilage microorganisms in chilled pork products. *Food Microbiology*, 19(2–3), 175–182. <https://doi.org/10.1006/fmic.2001.0474>
- Salgado, P. R., Ortiz, C. M., Musso, Y. S., Di Giorgio, L. i Mauri, A. N. (2015). Edible films and coatings containing bioactives. *Current Opinion in Food Science*, 5, 86–92. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2015.09.004>
- Sanchez-Moreno, C., Cao, G., Ou, B. i Prior, R. L. (2003). Anthocyanin and proanthocyanidin content in selected white and red wines. Oxygen radical absorbance capacity comparison with nontraditional wines obtained from highbush blueberry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(17), 4889–4896. <https://doi.org/10.1021/jf030081t>
- Sanchez-Moreno, C., Larrauri, J. A. i Saura-Calixto, F. (1998). A procedure to measure the antiradical efficiency of polyphenols. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 76(2), 270–276. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-0010\(199802\)76:2<270::AID-JSFA945>3.0.CO;2-9](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0010(199802)76:2<270::AID-JSFA945>3.0.CO;2-9)
- Sarkar, A. i Kaul, P. (2014). Evaluation of tomato processing by-products: A comparative study in a pilot scale setup. *Journal of Food Process Engineering*, 37(3), 299–307. <https://doi.org/10.1111/jfpe.12086>
- Schumpeter, I. A. (1960). *Teoria rozwoju gospodarczego*. Wydawnictwo Naukowe PWN.
- Sharif, T., Alhosin, M., Auger, C., Minker, C., Kim, J.-H., Etienne-Selloum, N., Bories, P., Gronemeyer, H., Lobstein, A., Bronner, C., Fuhrmann, G. i Schini-Kerth, V. B. (2012). Aronia melanocarpa juice induces a redox-sensitive p73-related caspase 3-dependent apoptosis in human leukemia cells. *PLoS ONE*, 7(3), e32526. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0032526>
- Sharma, P. C., Gupta, A. i Issar, K. (2017). Effect of packaging and storage on dried apple pomace and fiber extracted from pomace. *Journal of Food Processing and Preservation*, 41(3), e12913. <https://doi.org/10.1111/jfpp.12913>
- Shelke, N. B., James, R., Laurencin, C. T. i Kumbhar, S. G. (2014). Polysaccharide biomaterials for drug delivery and regenerative engineering. *Polymers for Advanced Technologies*, 25(5), 448–460. <https://doi.org/10.1002/pat.3266>
- Shih, P. H., Yeh, C. T. i Yen, G. C. (2007). Anthocyanins induce the activation of phase II enzymes through the antioxidant response element pathway against oxidative stress-induced apoptosis. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(23), 9427–9435. <https://doi.org/10.1021/jf071933i>
- Shu, X., Wang, M., Liu, D., Wang, D., Lin, X., Liu, J., Wang, X. i Huang, L. (2013). Preparative separation of polyphenols from artichoke by polyamide column chromatography and high-speed counter-current chromatography. *Quimica Nova*, 36(6), 836–839. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422013000600017>
- Simić, V. M., Rajković, K. M., Stojičević, S. S., Veličković, D. T., Nikolić, N. Č., Lazić, M. L. i Karabegović, I. T. (2016). Optimization of microwave-assisted extraction of total polyphenolic compounds from chokeberries by response surface methodology and artificial neural network. *Separation and Purification Technology*, 160, 89–97. <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2016.01.019>

- Simić, V. M., Stojičević, S. S., Veličković, D. T., Nikolić, N. Č., Lazić, M. L. i Karabegović, I. T. (2018). RSM approach for modeling and optimization of microwave-assisted extraction of chokeberry. *Advanced Technologies*, 7(1), 11–19. <https://doi.org/10.5937/savteh1801011S>
- Singh, B. i Sharma, N. (2008). Mechanistic implications of plastic degradation. *Polymer Degradation and Stability*, 93(3), 561–584. <https://doi.org/10.1016/j.polymdegradstab.2007.11.008>
- Singleton, V. L. i Rossi, J. A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, 16, 144–158.
- Siripatrawan, U. i Vitchayakitti, W. (2016). Improving functional properties of chitosan films as active food packaging by incorporating with propolis. *Food Hydrocolloids*, 61, 695–702. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2016.06.001>
- Skupień, K. i Oszmiański, J. (2007). The effect of mineral fertilization on nutritive value and biological activity of chokeberry fruit. *Agricultural and Food Science*, 16(1), 46–55. <https://doi.org/10.2137/145960607781635822>
- Šnebergrova, J., Čížkova, H., Neradova, E., Kapci, B., Rajchl, A. i Voldřich, M. (2014). Variability of characteristic components of aronia. *Czech Journal of Food Sciences*, 32(1), 25–30. <https://doi.org/10.17221/540/2012-CJFS>
- Sojkin, B. (red.). (2003). *Zarządzanie produktem*. Polskie Wydawnictwo Ekonomiczne.
- Sojkin, B. (red.). (2012). *Komercjalizacja produktów żywnościowych*. Polskie Wydawnictwo Ekonomiczne.
- Sothornvit, R. i Pitak, N. (2007). Oxygen permeability and mechanical properties of banana films. *Food Research International*, 40(3), 365–370. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2006.10.010>
- Souza, V. G. L., Fernando, A. L., Pires, J. R. A., Rodrigues, P. F., Lopes, A. A. S. i Fernandes, F. M. B. (2017). Physical properties of chitosan films incorporated with natural antioxidants. *Industrial Crops and Products*, 107, 565–572. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2017.04.056>
- Sójka, M., Kołodziejczyk, K. i Milala, J. (2013). Polyphenolic and basic chemical composition of black chokeberry industrial by-products. *Industrial Crops and Products*, 51, 77–86. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2013.08.051>
- StatSoft. (2006). *Internetowy podręcznik statystyki*. <http://www.statsoft.pl/textbook/stathome.html>
- Stepnowski, P., Synak, E., Szafranek, B. i Kaczyński, Z. (2010). *Techniki separacyjne*. Wydawnictwo Uniwersytetu Gdańskiego.
- Stojanovic, J. i Silva, J. L. (2007). Influence of osmotic concentration, continuous high frequency ultrasound and dehydration on antioxidants, colour and chemical properties of rabbiteye blueberries. *Food Chemistry*, 101(3), 898–906. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.02.044>
- Sudha, M. L., Dharmesh, S. M., Pynam, H., Bhimangoude, S. V., Eipson, S. W., Somasundaram, R. i Nanjarajurs, S. M. (2016). Antioxidant and cyto/DNA protective properties of apple pomace enriched bakery products. *Journal of Food Science and Technology*, 53(4), 1909–1918. <https://doi.org/10.1007/s13197-015-2151-2>

- Sut, S., Zengin, G., Maggi, F., Malagoli, M. i Dall'Acqua, S. (2019). Triterpene acid and phenolics from ancient apples of Friuli Venezia Giulia as nutraceutical ingredients: LC-MS study and in vitro activities. *Molecules*, 24(6), 1109. <https://doi.org/10.3390/molecules24061109>
- Szopa, A., Kubica, P. i Ekiert, H. (2017). Ekologia, skład chemiczny, działanie prozdrowotne oraz badania biotechnologiczne aronii czarnoowocowej (*Aronia melanocarpa* (Michx.) Elliott), aronii czerwonej (*Aronia arbutifolia* (L.) Pers.) i aronii śliwolistnej (*Aronia × prunifolia* (Marsh.) Rehd.). *Postępy Fitoterapii*, 18(2), 145–157. <https://doi.org/10.25121/PF.2017.16.2.145>
- Szymańska, I., Żbikowska, A. i Marciniak-Łukasiak, K. (2019). Jadalne opakowania i naczynia jednorazowe do żywności. *Przemysł Spożywczy*, 73(8), 72–77. <https://doi.org/10.15199/65.2019.8.11>
- Talon, E., Trifkovic, K. T., Nedovic, V. A., Bugarski, B. M., Vargas, M., Chiralt, A. i González-Martínez, C. (2017). Antioxidant edible films based on chitosan and starch containing polyphenols from thyme extracts. *Carbohydrate Polymers*, 157, 1153–1161. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2016.10.080>
- Tan, W., Zhang, J., Zhao, X., Li, Q., Dong, F. i Guo, Z. (2020). Preparation and physicochemical properties of antioxidant chitosan ascorbate/methylcellulose composite films. *International Journal of Biological Macromolecules*, 146, 53–61. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.12.044>
- Tanaka, T. i Tanaka, A. (2001). Chemical components and characteristics of black chokeberry. *Nippon Shokuhin Kagaku Kogaku Kaishi*, 48(8), 606–610. <https://doi.org/10.3136/nskkk.48.606>
- Tendaj, M. i Tendaj, B. (2000). Właściwości powłok jadalnych w pozbiornym uszlachetnianiu owoców i warzyw. *Zeszyty Naukowe Akademii Rolniczej w Krakowie*, 71, 423–427.
- Thani, N. A. A., Keshavarz, S., Lwaleed, B. A., Cooper, A. J. i Rooprai, H. K. (2014). Cytotoxicity of gemcitabine enhanced by polyphenolics from *Aronia melanocarpa* in pancreatic cancer cell line AsPC-1. *Journal of Clinical Pathology*, 67(11), 949–954. <https://doi.org/10.1136/jclinpath-2013-202075>
- Thi, N. D. i Hwang, E. S. (2014). Bioactive compound contents and antioxidant activity in *Aronia* (*Aronia melanocarpa*) leaves collected at different growth stages. *Preventive Nutrition and Food Science*, 19(3), 204–212. <https://doi.org/10.3746/pnf.2014.19.3.204>
- Thi, N. D. i Hwang, E. S. (2016). Effects of drying methods on contents of bioactive compounds and antioxidant activities of black chokeberries (*Aronia melanocarpa*). *Food Science and Biotechnology*, 25(1), 55–61. <https://doi.org/10.1007/s10068-016-0008-8>
- Tian, Y., Liimatainen, J., Alanne, A.-L., Lindstedt, A., Liu, P., Sinkkonen, J., Kallio, H. i Yang, B. (2017). Phenolic compounds extracted by acidic aqueous ethanol from berries and leaves of different berry plants. *Food Chemistry*, 220, 266–281. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.09.145>
- Tidd, J. i Bessant, J. (2011). *Zarządzanie innowacjami. Integracja zmian technologicznych, rynkowych i organizacyjnych*. Oficyna Wolters Kluwer Business.
- Tkaczewska, J. (2020). Peptides and protein hydrolysates as food preservatives and bioactive components of edible films and coatings – A review. *Trends in Food Science & Technology*, 106, 298–311. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.10.022>

- Tolić, M. T., Krbavčić, I. P., Vujević, P., Milinović, B., Jurčević, I. L. i Vahčić, N. (2017). Effects of weather conditions on phenolic content and antioxidant capacity in juice of chokeberries (*Aronia melanocarpa* L.). *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*, 67(1), 67–74. <https://doi.org/10.1515/pjfn-2016-0009>
- Tomšik, A., Pavlič, B., Vladić, J., Ramić, M., Brindza, J. i Vidović, S. (2016). Optimization of ultrasound-assisted extraction of bioactive compounds from wild garlic (*Allium ursinum* L.). *Ultrasonics Sonochemistry*, 29, 502–511. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2015.11.005>
- Ustawa z dnia 29 września 1994 r. o rachunkowości (Dz.U. z 1994 r., Nr 121, poz. 591 z późn. zm.).
- Ustawa z dnia 25 sierpnia 2006 r. o bezpieczeństwie żywności i żywienia (Dz.U. z 2006 r., Nr 171, poz. 1225 z późn. zm.).
- Ustawa z dnia 14 grudnia 2012 r. o odpadach (Dz. U. z 2013 r., poz. 21 z późn. zm.).
- Ustawa z dnia 13 czerwca 2013 r. o gospodarce opakowaniami i odpadami opakowaniami (Dz.U. z 2013 r., poz. 888 z późn. zm.).
- Van den Broek, L. A. M., Knoop, R. J. I., Kappen, F. H. J. i Boeriu, C. G. (2015). Chitosan films and blends for packaging material. *Carbohydrate Polymers*, 116, 237–242. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2014.07.039>
- Veberic, R., Slatnar, A., Bizjak, J., Stampar, F. i Mikulic-Petkovsek, M. (2015). Anthocyanin composition of different wild and cultivated berry species. *LWT – Food Science and Technology*, 60(1), 509–517. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2014.08.033>
- Vicentini, A., Liberatore, L. i Mastrocola, D. (2016). Functional foods: Trends and development of the global market. *Italian Journal of Food Science*, 28(2), 338–351. <https://doi.org/10.14674/1120-1770/ijfs.v211>
- Vinsova, J. i Vavrikova, E. (2008). Recent advances in drugs and prodrugs design of chitosan. *Current Pharmaceutical Design*, 14(13), 1311–1326. <https://doi.org/10.2174/138161208799316410>
- Vlachoianis, C., Zimmermann, B. F. i Chrubasik-Hausmann, S. (2015). Quantification of anthocyanins in elderberry and chokeberry dietary supplements. *Phytotherapy Research*, 29(4), 561–565. <https://doi.org/10.1002/ptr.5284>
- Wang, L., Dong, Y., Men, H., Tong, J. i Zhou, J. (2013). Preparation and characterization of active films based on chitosan incorporated tea polyphenols. *Food Hydrocolloids*, 32(1), 35–41. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2012.11.034>
- Wawer, I., Eggert, P. i Hołub, B. (2012). *Aronia super owoc*. Wektor.
- Wawer, I., Wolniak, M. i Paradowska, K. (2006). Solid state NMR study of dietary fiber powders from aronia, bilberry, black currant and apple. *Solid State Nuclear Magnetic Resonance*, 30(2), 106–113. <https://doi.org/10.1016/j.ssnmr.2006.05.001>
- Wilkes, K., Howard, L. R., Brownmiller, C. i Prior, R. L. (2013). Changes in chokeberry (*Aronia melanocarpa* L.) polyphenols during juice processing and storage. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 62(18), 4018–4025. <https://doi.org/10.1021/jf404281n>
- Wu, C., Cui, X., Yu, P., Yang, M., Zhang, Y., Liu, X. i Qu, G. (2019). Triterpenic acids from *Sorbaria sorbifolia*. *Chemistry of Natural Compounds*, 55(3), 580–582. <https://doi.org/10.1007/s10600-019-02750-3>

- Wu, X., Gu, L., Prior, R. L. i McKay, S. (2004). Characterization of anthocyanins and proanthocyanidins in some cultivars of Ribes, Aronia, and Sambucus and their antioxidant capacity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(26), 7846–7856. <https://doi.org/10.1021/jf0486850>
- Xu, Y. M., Du, Y. M., Huang, R. H. i Gao, L. P. (2003). Preparation and modification of N-(2-hydroxyl) propyl-3-trimethyl ammonium chitosan chloride nanoparticle as a protein carrier. *Biomaterials*, 24(27), 5015–5022. [https://doi.org/10.1016/s0142-9612\(03\)00408-3](https://doi.org/10.1016/s0142-9612(03)00408-3)
- Xu, Y. Y., Qiu, Y., Ren, H., Ju, D. H. i Jia, H. L. (2017). Optimization of ultrasound-assisted aqueous two-phase system extraction of polyphenolic compounds from Aronia melanocarpa pomace by response surface methodology. *Preparative Biochemistry and Biotechnology*, 47(3), 312–321. <https://doi.org/10.1080/10826068.2016.1244684>
- Yang, X., Wang, J., Luo, J. i Kong, L. (2012). One-step large-scale preparative isolation of isoquinoline alkaloids from Rhizoma coptidis chinensis by polyamide column chromatography and their quantitative structure-retention relationship analysis. *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies*, 35(13), 1842–1852. <https://doi.org/10.1080/10826076.2011.627605>
- Yen, M. T., Yang, J. H. i Mau, J. L. (2008). Antioxidant properties of chitosan from crab shells. *Carbohydrate Polymers*, 74(4), 840–844. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2008.05.003>
- Yolmeh, M., Habibi Najafi, M. B. i Farhoosh, R. (2014). Optimisation of ultrasound-assisted extraction of natural pigment from annatto seeds by response surface methodology (RSM). *Food Chemistry*, 155, 319–324. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.01.059>
- Yong, H., Wang, X., Bai, R., Miao, Z., Zhang, X. i Liu, J. (2019). Development of antioxidant and intelligent pH-sensing packaging films by incorporating purple-fleshed sweet potato extract into chitosan matrix. *Food Hydrocolloids*, 90, 216–224. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2018.12.015>
- Yono, B., Manthia, F., Amalin, N., Matin, H. H. A. i Sumardiono, S. (2018). Production of biogas from organic fruit waste in anaerobic digester using ruminant as the inoculum. *MATEC Web of Conferences*, 156, 03053. <https://doi.org/10.1051/mateconf/201815603053>
- Younes, I. i Rinaudo, M. (2015). Chitin and chitosan preparation from marine sources. Structure, properties and applications. *Marine Drugs*, 13(3), 1133–1174. <https://doi.org/10.3390/md13031133>
- Yu, J., Ahmedna, M. i Goktepe, I. (2005). Effects of processing methods and extraction solvents on concentration and antioxidant activity of peanut skin phenolics. *Food Chemistry*, 90(1–2), 199–206. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.03.048>
- Zalewska, M., Otreszko-Arski, A. i Zalewski, M. (2016). Wpływ suszenia konwekcyjnego i liofilizacji na barwę wybranych owoców. *Aparatura Badawcza i Dydaktyczna*, 21(3), 141–145. <http://yadda.icm.edu.pl/baztech/element/bwmeta1.element.baztech-65a92e98-464b-4316-96ba-bd10492d7aa8>
- Zhang, Q. A., Zhang, Z. Q., Yue, X. F., Fan, X. H., Li, T. i Chen, S. F. (2009). Response surface optimization of ultrasound-assisted oil extraction from autoclaved

- almond powder. *Food Chemistry*, 116(2), 513–518. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.02.071>
- Zhang, Q. W., Lin, L. G. i Ye, W. C. (2018). Techniques for extraction and isolation of natural products: A comprehensive review. *Chinese Medicine*, 13, 20. <https://doi.org/10.1186/s13020-018-0177-x>
- Zhao, C., Giusti, M. M., Malik, M., Moyer, M. P. i Magnuson, B. A. (2004). Effects of commercial anthocyanin-rich extracts on colonic cancer and nontumorigenic colonic cell growth. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(20), 6122–6128. <https://doi.org/10.1021/jf049517a>
- Zhou, Y., Zheng, J., Gan, R. Y., Zhou, T., Xu, D. P. i Li, H. B. (2017). Optimization of ultrasound-assisted extraction of antioxidants from the mung bean coat. *Molecules*, 22(4), 638. <https://doi.org/10.3390/molecules22040638>

Spis tabel

1. Odsetek przedsiębiorstw, które w latach 2013–2015 i 2016–2018 wprowadziły innowacje produktowe i procesowe	16
2. Odsetek przedsiębiorstw przemysłowych aktywnie innowacyjnych w latach 2013–2015 i 2016–2018 według działów PKD	16
3. Materiały stosowane do produkcji osłonek jadalnych	25
4. Wielkość zbiorów wybranych owoców jagodowych w Polsce w latach 2015–2019 (tys. ton).....	48
5. Graniczne parametry temperatur i próżni zastosowanych w procesie liofilizacji wycieków aronii	72
6. Zmienne niezależne oraz ich zakodowane i rzeczywiste wartości	76
7. Stężenia alkoholu etylowego (X_1) i czas sonikacji (X_2) przyjęty w planie kompozycyjnym eksperymentu optymalizacji ekstrakcji	77
8. Wielkości energetyczne pola ultradźwiękowego	78
9. Charakterystyka badanych przedsiębiorstw	89
10. Wielkości energetyczne nadźwiękawiania ekstraktów z wycieków aronii odmiany Nero (WN).....	100
11. Plan kompozycyjny z eksperymentalnymi i przewidywanymi wartościami dla ogólnej zawartości związków fenolowych (TPC), ogólnej zawartości antocyjanów (TAC) oraz właściwości przeciwrodnikowych (DPPH) ekstraktów z wycieków aronii odmiany Nero (WN)	103
12. Dopasowany model kwadratowy pod względem zakodowanych zmiennych dla ogólnej zawartości związków fenolowych (TPC), ogólnej zawartości antocyjanów (TAC) oraz właściwości przeciwrodnikowych (DPPH) ekstraktów z wycieków aronii odmiany Nero (WN).....	104
13. Analiza wariancji (ANOVA) wyników nieredukowanego modelu kwadratowego.....	105
14. Walidacja zoptymalizowanego modelu	107
15. Ogólna zawartość związków fenolowych (TPC), ogólna zawartość antocyjanów (TAC) i aktywność przeciwrodnikowa (DPPH) w wyizolowanych frakcjach ekstraktów z wycieków aronii odmiany Nero (WN) uzyskanych w wyniku ekstrakcji 60-procentowym roztworem alkoholu etylowego podczas 20-minutowej sonikacji na złożach LiChroprep i poliamidowym	110
16. Wielkości efektów głównych dla wieloczynnikowej analizy wariancji	111
17. Parametry barwy dla chitozanowych osłonek o różnym dodatku frakcji 2 ekstraktu z wycieków aronii	120

18. Grubość (d), rozpuszczalność w wodzie (WS), szybkość przenikania pary wodnej (WVTR), przepuszczalność pary wodnej (WVP) i przepuszczalność tlenu (OTR) dla chitozanowych osłonek o różnym dodatku frakcji 2 ekstraktu z wyłoków aronii.....	121
19. Bezpośrednie koszty wytworzenia chitozanowych osłonek	127
20. Silne i słabe strony dotyczące rozwoju chitozanowych osłonek jadalnych z dodatkiem ekstraktu aronii w opinii podmiotów	132
Z1. Metabolity wstępnie zidentyfikowane we frakcjach ekstraktu z wyłoków aronii odmiany Nero, wyizolowanych na złożach LiChroprep i poliamidowym	146

Spis rysunków

1. Model procesu zarządzania innowacjami	19
2. Struktura chemiczna (A) chityny i (B) chitozanu.....	26
3. Gospodarka o obiegu zamkniętym.....	35
4. Konsumpcja soków i nektarów w Polsce w latach 2014–2018.....	38
5. Masa odpadów wytworzonych w przetwórstwie owoców i warzyw oraz produkcji napojów w latach 2014–2016	39
6. Cechy morfologiczne <i>Aronia melanocarpa</i> [Michx.] Elliot: pokrój rośliny, kwiaty, dojrzałe owoce	43
7. Główne grupy związków biologicznie czynnych o właściwościach przeciwutleniających zawartych w aronii czarnoowocowej.....	44
8. Struktura powierzchni upraw owoców z krzewów owocowych i plantacji jagodowych w Polsce w 2019 roku	47
9. Struktura zbiorów owoców z krzewów owocowych i plantacji jagodowych w Polsce w 2019 roku	48
10. Ceny płacone producentom za owoce aronii w latach 2015–2019	49
11. Podział technik separacyjnych.....	52
12. Podział technik ekstrakcji próbek gazowych.....	54
13. Podział technik ekstrakcji próbek ciekłych.....	55
14. Podział technik ekstrakcji próbek stałych.....	56
15. Etapy procesu projektowania eksperymentu.....	61
16. Przygotowanie ekstraktów z wycieków aronii i optymalizacja procesu ekstrakcji	66
17. Analiza wyizolowanych frakcji ekstraktów z wycieków aronii.....	67
18. Opracowanie i techniczne testowanie koncepcji eksperymentalnych jadalnych osłonek z dodatkiem ekstraktu z wycieków aronii i bez niego	68
19. Przeprowadzenie indywidualnego wywiadu pogłębionego wśród przedsiębiorców.....	69
20. Owoce aronii czarnoowocowej (<i>Aronia melanocarpa</i> E.): (A) Nero i (B) Galicjanka	70
21. Krzywa wzorcowa do oznaczenia ogólnej zawartości związków fenolowych ...	74
22. Krzywa wzorcowa do oznaczenia właściwości przeciwrodnikowych	75
23. Krzywa wzorcowa do oznaczania ogólnej zawartości saponin.....	82
24. Krzywa wzorcowa do obliczania wartości TEAC	87
25. Przekrój podłużny i poprzeczny owoców aronii odmiany (A) Nero i (B) Galicjanki.....	93

26. Ogólna zawartość związków fenolowych w ekstraktach z wyłoków aronii uzyskanych w wyniku ekstrakcji 80-procentowym roztworem alkoholu etylowego odmiany Nero (WN) i Galicjanka (WG)	96
27. Ogólna zawartość antocyjanów w ekstraktach z wyłoków aronii uzyskanych w wyniku ekstrakcji 80-procentowym roztworem alkoholu etylowego odmiany Nero (WN) i Galicjanka (WG).....	97
28. Aktywność przeciwutleniająca w ekstraktach z wyłoków aronii uzyskanych w wyniku ekstrakcji 80-procentowym roztworem alkoholu etylowego odmiany Nero (WN) i Galicjanka (WG).....	98
29. Wpływ stężenia alkoholu etylowego i czasu sonikacji na (A) ogólną zawartość związków fenolowych (TPC), (B) ogólną zawartość antocyjanów (TAC), (C) właściwości przeciwrodnikowe (DPPH) w ekstraktach z wyłoków aronii odmiany Nero (WN).....	106
30. Oszacowane średnie brzegowe wpływu zastosowanych złóż na (A) ogólną zawartość związków fenolowych, (B) ogólną zawartość antocyjanów, (C) aktywność przeciwrodnikową w zależności od wyizolowanej frakcji.....	112
31. Ogólna zawartość saponin (TSC) w wyizolowanych frakcjach ekstraktów z wyłoków aronii odmiany Nero (WN) uzyskanych w wyniku ekstrakcji 60-procentowym roztworem alkoholu etylowego podczas 20-minutowej sonikacji na złożach LiChroprep i poliamidowym.....	118
32. Chitozanowe osłonki jadalne (A) bez dodatku, (B) z dodatkiem 0,5%, (C) z dodatkiem 1%, (D) z dodatkiem 1,5% frakcji 2 ekstraktu z wyłoków aronii.....	119
33. Przepuszczalność światła UV-Vis dla chitozanowych osłonek o różnym dodatku frakcji 2 ekstraktu z wyłoków aronii	121
34. Widma FTIR dla próbki kontrolnej i osłonek chitozanowych z różnym dodatkiem frakcji 2 ekstraktu z wyłoków aronii	123
35. Obrazy SEM chitozanowych osłonek: (A) bez dodatku, (B) z 0,5-procentowym dodatkiem frakcji 2 ekstraktu z wyłoków aronii, (C) z 1-procentowym dodatkiem frakcji 2 ekstraktu z wyłoków aronii, (D) z 1,5-procentowym dodatkiem frakcji 2 ekstraktu z wyłoków aronii	124
36. Widma EDS chitozanowych osłonek: (A) bez dodatku, (B) z 1,5-procentowym dodatkiem frakcji 2 ekstraktu z wyłoków aronii	125
37. Porównanie zdolności antyoksydacyjnych chitozanowych osłonek w zależności od dodatku frakcji 2 ekstraktu z wyłoków aronii mierzonych testami DPPH i ABTS.....	126

Sylwia Sady

Chokeberry pomace as a component of innovative edible casings

Summary

<https://doi.org/10.18559/978-83-8211-172-9-summary>

Introduction

Nowadays, product innovations, which often appear on the food market, play an increasingly important role. The development of product innovations for entrepreneurs in the food sector is treated as a key challenge resulting from factors such as the rapidly changing fashion on the market, shortening the life cycle of most products as well as strong competition or changes in consumer lifestyles. Product innovations are becoming one of the conditions for the development of the food market, especially those that bring measurable benefits to consumers. An important direction that can affect the effectiveness and competitive advantage of an enterprise operating in the field of agri-food processing is the design of innovative products aimed at the introduction and popularisation of pro-health solutions.

In recent years, a clear research direction closely related to the production of environmentally friendly products has been observed. Many research works have been devoted to the search for and analysis of natural biopolymers, which are of great interest in various industries due to their properties such as: non-toxicity, biocompatibility and biodegradability. These features make them an attractive material for a number of applications, including the production of edible casings protecting food products. An analysis of literature data shows that edible casings based on natural biopolymers are characterised by certain functional limitations. One of the ways to improve the functional properties of edible cas-

More in the monograph in Polish: Sady, S. (2023). *Wytłoki aronii jako komponent innowacyjnych osłonek jadalnych*. Wydawnictwo Uniwersytetu Ekonomicznego w Poznaniu. <https://doi.org/10.18559/978-83-8211-172-9>

ings may be the cross-linking of polymers with the use of bioactive compounds which have antioxidant properties.

The idea of a circular economy encompasses minimising waste by reusing or recycling it, as well as implementing full waste recovery, which means, above all, treating the generated waste as a potential source of secondary raw materials. Among such secondary raw materials, valuable for shaping the health-promoting properties of food, are the by-products of chokeberry fruit processing. In fact, chokeberry pomace is a natural source of bioactive compounds. A substantial amount of research work has been devoted to assessing the potential of chokeberries and their juice. Studies on the functional properties of chokeberry fruit processing by-products, as well as their broader use as secondary raw materials, have a much smaller share in the literature.

The basic method of obtaining substances with health-promoting properties from various by-products is extraction. Management of the extraction process using statistical planning methods can lead to a significant improvement in the results of the process and affect its technological and economic aspects. Therefore, the author defined the aim of this research taking into account the development of the sector of product innovations on the market of casings intended for direct contact with food and a balanced approach to the use of by-products in accordance with the assumptions of environmental protection.

Thus, the aim of the work was to assess the usefulness of chokeberry pomace extract in the development of innovative biopolymer chitosan casings with enhanced functional properties.

Based on the analysis of data from the literature and preliminary experimental research, the following hypotheses were formulated:

1. Appropriate solvent concentration in the range of 60%–96% and the sonication time between 10 and 30 minutes in extraction processes will ensure the optimal extraction of biologically active compounds from chokeberry pomace.
2. Fractional separation of substances contained in chokeberry pomace extracts will allow to obtain a group of compounds with the highest antioxidant properties.
3. Addition of a fraction of chokeberry pomace extract at the level of 0.5%–1.5% to chitosan casings will allow to obtain innovative chitosan casings with improved functional properties.

Scope of research undertaken to achieve the aim of the work

The first stage of the research included the preparation of chokeberry pomace extracts and optimisation of the extraction process. For this purpose, research material was obtained and prepared, i.e. pomace from two varieties of black

chokeberry. The obtained pomace was subjected to the process of lyophilisation. Next, from the obtained lyophilisates, extracts were prepared for the preliminary analysis of phenolic compounds and antioxidant properties, on the basis of which the Nero variety was selected for further research. In the subsequent stage of the research, the extraction process was optimised using the theory of planning experiments with the response surface method (RSM).

In the second stage of the research, fractional separation of chokeberry pomace extracts obtained under optimised extraction conditions was carried out. This step was aimed at obtaining an extract fraction with a high concentration of biologically active compounds which had antioxidant properties. First, the extracts were prepared under optimal extraction conditions, and then separated into fractions by column chromatography on two beds. The obtained fractions were subjected to preliminary qualitative analysis, analysis of antioxidant properties and analysis of the total content of phenolic compounds and saponins.

The third stage consisted of the development and technical testing of the concept of experimental edible casings with and without the addition of chokeberry pomace extract. In the first part of this stage, the concept of experimental edible casings was developed. This was followed by technical testing of the concept of experimental edible casings. The third stage of the research ended with estimating the direct costs of producing the experimental edible casings.

The fourth stage of the research entailed conducting individual in-depth interviews among selected entrepreneurs. For this purpose, the author developed a script and conducted interviews, together with transcripts of the recordings. Finally, an analysis of the collected information was carried out.

Results and conclusions

The use of the designed experiment based on the response surface method (RSM) to optimise the extraction process from chokeberry pomace using ethyl alcohol and the ultrasonic technique made it possible to determine the influence of individual parameters of the extraction process on the total content of phenolic compounds, the total content of anthocyanins as well as the antioxidant properties. Based on the results obtained from the validation of the optimised model, it was found that the optimal conditions for the extraction of bioactive compounds from chokeberry pomace occur with the use of a 60% ethyl alcohol solution during 20-minute sonication. Therefore, the first research hypothesis has been verified positively.

In this work, the author has presented a procedure for obtaining and fractionating a group of compounds with high antioxidant properties. The developed fractionation method using two types of beds, i.e. LiChroprep RP-18 and poly-

amide-6, allowed to obtain a fraction with a high concentration of biologically active compounds which had antioxidant properties. The test results showed that the second fraction isolated from the chokeberry pomace extract obtained as a result of extraction with a 60% ethanol solution during 20-minute sonication on a polyamide bed was characterised by the highest antioxidant potential. The statistical analysis also confirmed that both the type of fraction and the type of bed, as well as their combinations, determine the level of the total content of phenolic compounds, the total content of anthocyanins and the antioxidant properties. The preliminary analysis regarding the identification of metabolites contained in fractions isolated on LiChroprep and polyamide beds from chokeberry pomace extract was carried out using two instrumental methods (HPLC-ESI-IT-MS and UPLC-Q-Orbitrap-MS).

In the analysed fractions, chemical structures were initially assigned based on mass fragmentation, high-resolution mass spectrometry and literature data. The presence of compounds from the group of phenolic acids, flavonols and anthocyanins was reported. On the basis of the obtained results and literature analysis, chemical structures for several metabolites, which have not been described in chokeberry fruits so far, were also assigned. Some peaks in the chromatogram correspond to molecular ions, which may suggest the presence of, among others, saponins so far unidentified in chokeberries. However, derivatives of triterpenoic acids have been observed in other plants belonging to the *Rosaceae* family, which also includes the chokeberry. The total content of saponins was the highest in the second fraction eluted with 40% ethyl alcohol on a polyamide bed. In brief, the above results positively verify the second hypothesis adopted in this work.

At the next stage, experimental edible casings based on chitosan with the addition of the second fraction of chokeberry pomace extract were developed. The addition of the second fraction of chokeberry pomace extract at the level of 0.5%–1.5% to chitosan casings allowed to obtain innovative chitosan casings with increased functional and health-promoting properties. This was confirmed in the tests of the functional properties of the casings under analysis. With the increase in the volume of the second fraction of the chokeberry pomace extract, the UV-Vis barrier of the tested casings increased. However, increasing the addition of the second fraction of the chokeberry pomace extract resulted in a decrease in water vapour permeability. The addition of 0.5% to 1.5% of the second fraction from the chokeberry pomace extract slightly increased the solubility of the casings in water. However, with the increase in the addition of the second fraction, the oxygen permeability of chitosan casings decreased. This suggests that the biologically active compounds with antioxidant properties contained in the second fraction of chokeberry pomace extract can significantly improve the oxygen barrier properties of the chitosan casing. All tested casings showed

antioxidant properties, but their activity varied. It was observed that the antioxidant potential of the casing increased with the increase in the amount of extract in the sample. Determining the optimal amount of the addition of the second fraction of the chokeberry pomace extract is a complex process in which a number of factors must be taken into account, e.g. the type of product to be coated with the casing, the form of casing application, organoleptic characteristics as well as the expected period of extending the shelf life of the product. The conducted research may be a starting point for further research on the development and evaluation of prototypes of edible casings for selected food products. In sum, the obtained results make it possible to positively verify the third hypothesis.

At the last stage of the research, individual in-depth interviews were conducted to assess the perception of the development of innovative edible casings by selected representatives of different enterprises, depending on the industry and size of the enterprise. The respondents decided that the designed chitosan casings could be used in their industries as an internal innovative protective barrier and as a marketing distinguishing feature. Among the weaknesses, they mentioned concerns related to the application possibilities of this type of casing on products and the lack of knowledge about the costs of its use compared to the waxes they currently use. In turn, producers of films and casings as well as fruit and vegetable producers, mainly representatives of large and medium-sized enterprises, decided that the most important advantage in the context of the development of edible chitosan casings is the possibility of extending the shelf life of products. Their implementation would also have a strong impact on the competitiveness of non-degradable plastic casings. Among the weaknesses of this type of casings, they indicated the possible lack of their effectiveness as a barrier limiting the migration of water vapour. On the other hand, fruit and vegetable processing enterprises emphasised the fact that one of the key issues that may affect the development of chitosan edible casings with additional health-promoting features is the possibility of using some by-products obtained by them. Regardless of the industry, representatives of large enterprises declared the greatest interest in the potential application and development of chitosan edible casings, while representatives of micro-enterprises showed the least interest. Edible chitosan casings with health-promoting properties, despite the above-mentioned weaknesses, were considered by the respondents as a solution of the future, with great market potential. The direction of development was assessed as having a strong impact on the competitiveness of enterprises, primarily in relation to non-degradable plastic casings, but also casings that do not have additional health-promoting features. The results of the qualitative study in the area of perception of edible chitosan casings by entrepreneurs from the industries under analysis showed that the casings were assessed as an ecological and technological innovation that should promote the circular economy mainly

in large and medium-sized enterprises. Edible chitosan casings can contribute to an ecological and waste-free environment, as they are innovative products that reduce the release of harmful substances throughout the life cycle and contribute to better use of limited natural resources.

Originality and value

The scientific monograph entitled “Chokeberry pomace as a component of innovative edible casings” is an interdisciplinary theoretical and empirical study of the use of chokeberry pomace as a component of innovative biopolymer edible casings with enhanced functional properties. A particular advantage of this monograph is its methodological pluralism manifested in the large number of methods used in the experiment, together with the manner and sequence of their planning. It also presents the method of conducting research, taking into account such goals as the standard of repeatability and reproducibility as well as an illustrative presentation of a correctly designed experiment. This book is of great importance for the circular economy paradigm in its economic and ethical aspects – it proposes a solution for the management of by-products of chokeberry processing as a component of innovative edible casings. The publication was intended to serve as a response to the needs and reinforcement of positive trends in science, technology, economy, marketing and consumer behaviour. The monograph is a contribution to the development of the discipline of management and quality science, and especially research on product development, product management and product quality in the context of one of the most urgent needs of the Polish and global economies, which is the need to reduce the amount of waste.

Keywords: chokeberry pomace, edible casings, design of experiment, innovative product design, product management, product quality management, product development, sustainable product, circular economy

*Translated by
Krzysztof Stec*

Problematyka podjęta w recenzowanej monografii dotyczy zagospodarowania produktu ubocznego z przetwórstwa owoców aronii. Analiza i ocena uzyskanych jadalnych osłonek z dodatkiem wyłoków aronii pozwala na zapewnienie bezpieczeństwa produktu, przedłużenie jego trwałości i jednocześnie wskazuje na możliwość upcyklingu wyłoków. Zagadnienia poruszane w monografii są niezwykle ważne ze względu na ich wymiar społeczny i gospodarczy – zapobieganie marnotrawieniu żywności, walka ze zmianą klimatu, zmniejszanie emisji gazów cieplarnianych. Ponadto kształtowanie i projektowanie innowacyjnego produktu wraz z określeniem czynników wpływających na jego jakość wpisuje się wprost w zagadnienia związane z zarządzaniem produktem. Wyjątkowo cennym atutem recenzowanej monografii jest wykorzystanie w badaniach wywiadów z menedżerami zaangażowanymi w projektowanie i rozwój produktu z organizacji o różnej skali działalności gospodarczej, związanych z branżą opakowaniową i owocowo-warzywną.

Z recenzji prof. dr hab. Małgorzaty Krzywonos