

AUTOREFERAT
Opis osiągnięcia naukowego

Dr inż. Jarosław Markowski

Instytut Ogrodnictwa

ul. Konstytucji 3 Maja 1/3

96-100 Skierniewice

Skierniewice 2017

Spis treści

1. DANE PERSONALNE	3
2. POSIADANE DYPLOMY I STOPNIE NAUKOWE.....	3
3. INFORMACJA O DOTYCHCZASOWYM ZATRUDNIENIU W JEDNOSTKACH NAUKOWYCH	3
4. WSKAZANIE OSIĄGNIĘCIA	4
4.1. Określenie osiągnięcia	4
4.2. Wprowadzenie	6
4.3. Cel badań.....	9
4.4. Streszczenie osiągnięcia.....	9
4.5. Surowiec do badań, technologia przerobu oraz metody analityczne.....	10
4.5.1. Produkty i surowiec do badań.....	10
4.5.2. Technologie przetwarzania	11
4.5.3. Metody analityczne	13
4.6. Wyniki badań	14
4.7. Omówienie wyników badań w odniesieniu do postawionych celów naukowych	18
4.8. Podsumowanie	20
4.9. Kierunek dalszych badań	21
4.10. Bibliografia	22

1. DANE PERSONALNE

Imię i nazwisko: Jarosław Wojciech Markowski

Miejsce pracy: Instytut Ogrodnictwa

ul. Konstytucji 3 Maja 1/3

96-100 Skierniewice

Zakład Przechowalnictwa i Przetwórstwa Owoców i Warzyw

– Pracownia Przetwórstwa i Oceny Jakości Owoców i Warzyw

– Laboratorium Badania Jakości Produktów Ogrodniczych

2. POSIADANE DYPLOMY I STOPNIE NAUKOWE

1.07.1993

Politechnika Łódzka

Wydział Chemii Spożywczej i Biotechnologii

Stopień magistra inżyniera biotechnologii z wynikiem bardzo dobrym.

Praca magisterska: „Wpływ azotanów i azotynów na biosyntezę kwasu L-askorbinowego

w kilkudniowych siewkach rzeżuchy” Instytut Biochemii Technicznej, Zespół Technologii Witamin

i Koncentratów Spożywczych

Promotor: doc. dr hab. Piotr Moszczyński

18.10.2000

Instytut Sadownictwa i Kwiaciarstwa

Stopień doktora nauk rolniczych w zakresie ogrodnictwa

Praca doktorska: „Wpływ stopnia dojrzałości owoców kilku odmian jabłek oraz dodatku kwasu

askorbinowego podczas produkcji naturalnie mętnych soków jabłkowych na ich jakość

i stabilność” Instytut Sadownictwa i Kwiaciarstwa, Skierniewice 2000

Promotor: prof. dr hab. Witold Płocharski, Instytut Sadownictwa i Kwiaciarstwa

Recenzenci:

prof. dr hab. Janusz Czapski, Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu (do 2008 r. AR)

prof. dr hab. Jan Oszmiański, Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu (do 2006 r. AR)

3. INFORMACJA O DOTYCHCZASOWYM ZATRUDNIENIU W JEDNOSTKACH NAUKOWYCH

1.07.1993 r. – 18.10.2000 r.

Asystent w Zakładzie Przechowalnictwa i Przetwórstwa Owoców w Instytucie Sadownictwa i Kwiaciarstwa

18.10.2000 r. – 22.12.2010 r.

Adiunkt w Instytucie Sadownictwa i Kwiaciarstwa

22.12.2010 r. – 14.11.2014 r.

Kierownik Pracowni Przetwórstwa Owoców w Zakładzie Przechowalnictwa i Przetwórstwa Owoców w Instytucie Sadownictwa i Kwiaciarstwa im. Szczepana Pieniążka

14.11.2014 r. – do 26.02.2016 r.

p.o. Kierownika Pracowni Przetwórstwa i Oceny Jakości Owoców i Warzyw w Zakładzie Przechowalnictwa i Przetwórstwa Owoców i Warzyw w Instytucie Ogrodnictwa

od 26.02.2016 r. – do chwili obecnej

Kierownik Pracowni Przetwórstwa i Oceny Jakości Owoców i Warzyw w Zakładzie Przechowalnictwa i Przetwórstwa Owoców i Warzyw z jednoczesnym pełnieniem funkcji Kierownika Laboratorium Badania Jakości Produktów Ogrodniczych w Zakładzie Przechowalnictwa i Przetwórstwa Owoców i Warzyw w Instytucie Ogrodnictwa

4. WSKAZANIE OSIĄGNIĘCIA

Osiągnięciem naukowym wynikającym z art. 16 ust. 2 ustawy z dnia 14 marca 2003 roku o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. nr 65, poz. 595 ze zm.) jest jednotematyczny cykl publikacji naukowych pt. „**Wpływ odmiany i metody przetwarzania jabłek na kształtowanie cech jakościowych soku**”.

4.1. Określenie osiągnięcia

Osiągnięcie stanowi monotematyczny cykl publikacji, wydanych po uzyskaniu stopnia naukowego doktora.

W latach 2005-2015 prowadziłem studia literaturowe i prace badawcze związane z wpływem odmiany i warunków przetwarzania na skład chemiczny i jakość przecierów i soków jabłkowych. Uzyskane rezultaty opublikowałem w postaci cyklu prac (H.1-H.6), które uważam za swoje największe osiągnięcie w dotychczasowej działalności naukowej i przedkładam, jako podstawę ubiegania się o nadanie stopnia doktora habilitowanego.

Publikacje wchodzące w skład rozprawy habilitacyjnej:

Lp.	Autorzy, rok wydania, tytuł, czasopismo, numer, strony (IF; pkt wg MNiSW; cytowania)
H.1	Markowski J., Płocharski W. 2005: Aktywność antyoksydacyjna oraz skład chemiczny soków jabłkowych dostępnych na polskim rynku. <i>Przemysł Fermentacyjny i Owocowo Warzywny</i> , 8-9: 46–49. (IF = 0; MNiSW = 4; cytowania wg WOS = 0)
H.2	Markowski J., Kołodziejczyk K., Król B., Płocharski W., Rutkowski K. 2007: Phenolic in apples and processed apple products. <i>Polish Journal of Food and Nutrition Science</i> , 57, 4(B): 383–388. (IF = 0,0; MNiSW = 6; cytowania wg WOS = 0)
H.3	Markowski J., Mieszczakowska M., Fastyn M., Płocharski W. 2008: Aktywność antyoksydacyjna owoców i przetworów z jabłek. <i>Przemysł Fermentacyjny i Owocowo Warzywny</i> , 4: 25–26. (IF = 0; MNiSW = 4; cytowania wg WOS = 0)
H.4	Markowski J., Mieszczakowska M., Płocharski W. 2009: Effect of apple cultivar and enzyme treatment on phenolic compounds content during clear apple juice production. <i>International Journal of Food Science and Technology</i> , 44 (5):1002–1010. (IF = 1,172; MNiSW = 20; cytowania wg WOS = 16)
H.5	Markowski J., Baron A., Mieszczakowska M., Płocharski W. 2009: Chemical composition of French and Polish cloudy apple juice. <i>Journal of Horticultural Science and Biotechnology</i> , 2009, Sp. Iss.: 68–74. (IF = 0,839; MNiSW = 20; cytowania wg WOS = 17)
H.6	Markowski J., Baron A., Le Quéré J-M., Płocharski W. 2015: Composition of clear and cloudy apple juices from French and Polish fruits in relation to processing technology. <i>LWT – Food Science and Technology</i> , 62: 813–820. (IF = 2,416; MNiSW = 35; cytowania wg WOS = 3)

ŁĄCZNIE:

Impact Factor = 4,427;

Punkty MNiSW z rokiem wydania = 73 (Punkty MNiSW 2015 = 110)

Cytowania wg WOS = 36

Uwagi: *Impact Factor (IF)* – zgodnie z rokiem wydania. *Punktacja MNiSW* – zgodnie z rokiem wydania.

Oświadczenia współautorów prac określające szczegółowo ich indywidualny wkład w powstanie publikacji znajdują się **w Załączniku 4.**

4.2. Wprowadzenie

Przetwory jabłkowe, a szczególnie klarowne i naturalnie mętne soki jabłkowe, stanowią istotne z żywieniowego punktu widzenia źródło energii, substancji mineralnych oraz związków o działaniu antyoksydacyjnym i prozdrowotnym. Z tego względu zagadnienia wpływu odmiany jabłek, jakości surowca i technologii przetwarzania na skład chemiczny i jakość przetworów z jabłek należą do istotnych obszarów badań.

Spożycie owoców i warzyw oraz ich przetworów, sprzyja zwiększeniu w diecie ilości cennych składników, których niedostatek w pożywieniu skutkuje zagrożeniem wystąpienia chorób dietozależnych. Do takich składników należą: potas, błonnik pokarmowy, cholina, magnez, wapń, oraz witaminy A, D i C, a jeśli chodzi o dziewczęta i kobiety do 50 roku życia również żelazo (USDA 2016). Ponadto zwiększenie spożycia owoców i warzyw oraz przetworów z nich otrzymanych i obniżenie spożycia produktów o wysokiej kaloryczności (np. bogatych w tłuszcze i dodane cukry) może w większym stopniu przeciwdziałać otyłości niż samo ograniczenie spożycia tłuszczów i wysokoenergetycznej żywności, a ponadto może skutkować zmniejszeniem ryzyka wystąpienia cukrzycy typu drugiego, dla której otyłość stanowi sprzyjający czynnik (Carter i wsp. 2005).

Według Płocharskiego i wsp. (2013) w Polsce spożywa się 15 kg jabłek na osobę oraz 3 litry soku jabłkowego, głównie jako sok klarowny odtworzony z soku zagęszczonego, niestety w ostatnich latach obserwuje się tendencję zniżkową w spożyciu jabłek (Nosecka 2016). Wyniki badań medycznych (Licht i wsp. 2010; Ravn-Haren i wsp. 2013) wskazują na mniejsze korzyści zdrowotne konsumpcji soków klarownych w stosunku do soków mętnych. Wynika to prawdopodobnie z faktu synergistycznego oddziaływania fizjologicznego związków fenolowych i błonnika (Barth i wsp. 2005), co sugeruje celowość zwiększania zawartości obu tych składników w produktach przemysłu sokowniczego.

Obecnie Światowa Organizacja Zdrowia (WHO) zaleca, aby każdy z nas codziennie spożywał co najmniej 400 g owoców i warzyw, podzielonych na 5 porcji (WHO 2003; Yahia 2009), jednakże jak podano w innym opracowaniu (WHO 2012) realne zwyczaje żywieniowe nie są optymalne dla zachowania dobrego stanu zdrowia, dotyczy to szczególnie młodych ludzi, gdyż konsumpcja owoców i warzyw dla tej grupy jest znacznie poniżej zalecanych ilości, przy wysokim spożyciu słodzonych napojów będących przyczyną otyłości (Hu 2013; Mazur 2015). Słodzone napoje z powodzeniem mogłyby być zastąpione sokami owocowymi, gdyż, zgodnie z działaniami promocyjnymi prowadzonymi w Unii Europejskiej, przyjmuje się, że szklanka soku owocowego może stanowić jedną z pięciu porcji warzyw i owoców. W zaleceniach wielu krajów, w tym USA i Polski, proponuje się, aby warzywa i owoce stanowiły 50% spożywanej codziennie żywności. Według badań budżetów gospodarstw domowych GUS (Łysoń 2016) spożycie owoców wyniosło w 2015 roku 41,2 kg na osobę rocznie, natomiast warzyw, z wyłączeniem ziemniaków – 59,9 kg. Łączne spożycie osiągnęło zaledwie 276,8 g dziennie i na tle wskazanych powyżej

zaleceń było dalece niewystarczające. Przykładowo spożycie jabłek wyniosło 40 g dziennie, co odpowiada 1/5 średniego jabłka dziennie. W statystyce GUS (Łysoń 2016) oddzielną kategorię stanowią soki owocowe i owocowo-warzywne, których spożycie szacuje się na 11,3 litrów na rok na osobę, co daje około 31 ml soków na dzień. Dotychczas w badaniach medycznych nie określono, jakie ilości soków należałoby spożywać dla optymalnej prewencji przed wystąpieniem przewlekłych chorób, jednakże uważa się, że spożycie jednej szklanki soku owocowego dziennie jest korzystne dla zdrowia (Płocharski i wsp. 2016), przyczyniając się do poprawy odżywienia (O'Neil i wsp. 2012). Również badania francuskie wskazują, że włączenie do diety soków owocowych i warzywnych wiąże się z lepszą jakością diety i wpisuje się w cele stawiane we Francuskim Krajowym Planie dla zdrowia i odżywiania (Francou i wsp. 2015). Fakty naukowe znalazły odbicie w stanowisku Parlamentu Europejskiego i Rady UE, które w ramach programu „owoce i warzywa w szkole” włączają zgodnie z artykułem 23 ust. 3 („pomoc dotycząca dystrybucji owoców i warzyw, przetworzonych owoców i warzyw oraz bananów wśród dzieci”) Rozporządzenia Nr 1308/2013 do dystrybucji w szkołach przetworzone owoce i warzywa, w tym soki owocowe.

Ze względu na znaczenie dla krajowego ogrodnictwa równie istotny jest aspekt gospodarczy. Polska, według danych GUS, jest trzecim na świecie producentem jabłek i drugim eksporterem zagęszczonego soku jabłkowego za Chinami i USA – a produkcja surowca i przetwórstwo stanowią istotną gospodarczo gałąź gospodarki. Większość z 3 – 3,5 mln ton jabłek jest przetwarzana, głównie na soki i soki zagęszczone. W ostatnich latach można zauważyć znaczącą dynamikę wzrostu produkcji soków mętnych (NFC). W 2016 roku w wolumenie przetwórstwa jabłek 90% stanowiły zagęszczone soki klarowne, a 9% soki naturalnie mętne, niezagęszczane (Trojanowicz 2015). Jest to nowy trend w przetwórstwie jabłek i można oczekiwać, że w świetle obecnej sytuacji na świecie i problemów z eksportem owoców ulegnie on wzmocnieniu, tym bardziej, że tego rodzaju produkcją zainteresowani są sami producenci jabłek, ponieważ zwiększa to opłacalność produkcji ogrodniczej, a aktualne badania wskazują, że konsumenci preferują soki mętne (Włodarska i wsp. 2016).

Według danych GUS największy udział w produkcji towarowej jabłek ma odmiana 'Idared' (18,7%), następnie 'Szampion' (10,5%) i 'Jonagold' (9,9%), a łączna produkcja owoców tych 3 odmian stanowiła 40% zbioru owoców w sezonie 2015 (Stankiewicz 2015). Istotne jest uwzględnienie aspektu odmianowego w przetwórstwie owoców, szczególnie w kontekście problemów eksportowych owoców deserowych i konieczności ich przetwarzania na soki zagęszczone i soki mętne NFC oraz ze względu na dynamikę wzrostu konsumpcji soków NFC (Trojanowicz 2015). Wiadomym jest z literatury, że odmiana w znacznym stopniu wpływa na zawartość związków fenolowych w soku (Guyot i wsp. 2003; Eisele i Drake 2005), stąd w dalszej perspektywie ważne jest prowadzenie badań nad nowymi odmianami, szczególnie o cechach parchoodporności (Czynczyk i wsp. 2005), umożliwiającymi obniżenie kosztów produkcji ogrodniczej i dostarczenie surowca dla przemysłu przetwórczego o wysokiej zawartości

substancji prozdrowotnych. Dlatego też w moich badaniach poświęcałem uwagę odmianom parchoodpornym znajdującym się w produkcji towarowej, takich jak 'Topaz' i 'Ariwa', oraz nowym perspektywicznym odmianom, jak 'Melfree' i 'Rajka', które mogą być wartościowe dla sadów przemysłowych. Prace badawcze prowadziłem również na odmianach cydrowych charakteryzujących się odmiennym składem związków fenolowych.

Związki fenolowe obecne w jabłkach i w otrzymanych z nich przetworach mają właściwości kardioprotekcyjne, przeciwzapalne i antyoksydacyjne oraz właściwości mogące ograniczać ryzyko niektórych nowotworów (Boyer i Liu 2004), jednak ich poziom w dużym stopniu zależy od odmiany jabłek (Eisele i Drake 2005; Łata i wsp. 2005) – w przypadku odmian deserowych jabłek kształtuje się na poziomie 300-500 mg/kg, ale odmiany cydrowe mogą zawierać nawet 2500 mg/kg (Sanoner i wsp. 1999; Guyot i wsp. 2002). Jednakże bez względu na występowanie różnic ilościowych w zawartości związków fenolowych, niezależnie od odmiany owoców, rejonu uprawy, sezonu, długości i warunków przechowywania owoców dane literaturowe potwierdzają, że na związki fenolowe jabłek składają się:

- kwasy fenolowe: kwas chlorogenowy i kwas 4'-p-kumarylochinowy,
- flawan-3-ole: (+)katechina, (-)epikatechina i ich oligo i polimery – procyjanidyny,
- flawonole: np. glikozydy kwercetyny,
- dihydrochalkony: florydzyne oraz ksyloglukozyd floretyny.

W miąższu owoców dominuje kwas chlorogenowy i flawanole, podczas gdy glikozydy kwercetyny są obecne głównie w skórce owoców (Tsao i wsp. 2003; Łata i wsp. 2009). Z kolei dihydrochalkony są zlokalizowane głównie w nasionach jabłek (Thielen i wsp. 2004). Zawartość związków fenolowych w skórce jabłek jest w znacznym stopniu zależna od sezonu wegetacyjnego, podczas gdy związki fenolowe w miąższu jabłek są zależne głównie od odmiany (Łata i Tomala 2007). Związki fenolowe są stabilne podczas przechowywania jabłek w warunkach chłodniczych (Golding i in. 2001; Awad i De Jager 2003; Matthes i Schmitz-Eiberger 2009; Begic-Akagić i wsp. 2011), natomiast w procesach przetwarzania generalnie dochodzi do wysokich strat (50% – 97%) związków fenolowych (van der Sluis i wsp. 2002; Dietrich i wsp. 2003), związanych z obróbką technologiczną (Hubert i wsp. 2007) w tym traktowaniem enzymami pektolitycznymi (Nagy i wsp. 1993) i klarowaniem (Oszmiański i wsp. 2009). Soki mętne uważa się za zdecydowanie bogatsze w związki fenolowe w porównaniu z sokami klarownymi (Oszmiański i wsp. 2007b). Ze względu na problemy ze stabilnością zmętnienia są wytwarzane bez obróbki enzymatycznej, która ma wpływ na profil i ogólną ilość związków fenolowych w sokach (Michalev i wsp. 2004; Oszmiański i wsp. 2009). Biorąc pod uwagę ograniczenia technologiczne szczególnego znaczenia nabiera określenie przydatności odmian jabłek do przetwarzania na soki mętne w kontekście zawartości związków fenolowych.

Spożycie związków fenolowych w dużym stopniu zależy od zwyczajów żywieniowych, jednakże szacuje się, iż w Europie Centralnej wynosi około 1 g/dzień (Scalbert i Williamson 2000; Manach i wsp. 2004)

i jest ponad 10 razy wyższe niż zalecane dzienne spożycie witaminy C wynoszące 80 mg, przy czym w Europie Centralnej jabłka, oprócz cebuli i herbaty, są głównym źródłem tych związków w diecie (Hertog i wsp. 1993). W Polsce spożycie związków fenolowych szacuje się na 440 mg dziennie, przy czym owoce i warzywa są głównym ich źródłem (Wilczyńska i Retel 2011). Niestety nie ma oficjalnych zaleceń żywieniowych dotyczących spożycia związków fenolowych, natomiast zalecenia zwiększania spożycia owoców, warzyw oraz ich przetworów pośrednio sugerują konieczność wzrostu ich spożycia w stosunku do aktualnych poziomów. Podkreśla to potencjalne znaczenie żywieniowe związków fenolowych pochodzących z jabłek i przetworów jabłkowych dla zdrowia społeczeństwa i uzasadnia celowość prowadzenia prac pozwalających na lepsze poznanie wpływu odmiany i metody przetwarzania jabłek na kształtowanie cech jakościowych soków jabłkowych.

4.3. Cel badań

Głównym celem badań prowadzonych i zaprezentowanych w publikacjach H.1-H.6 stanowiących osiągnięcie naukowe były:

1. Ocena wpływu przetwarzanej odmiany jabłek na zawartość związków fenolowych w przetworach jabłkowych.
2. Określenie zmian aktywności antyoksydacyjnej w procesach przetwarzania jabłek z wykorzystaniem metody spektrofotometrycznej przy użyciu kationorodnika ABTS^{•+}.
3. Określenie wpływu technologii produkcji soku, w tym obróbki enzymatycznej, na skład chemiczny soków, ich autentyczność oraz zawartość związków fenolowych.

4.4. Streszczenie osiągnięcia

Cykl publikacji stanowiących rozprawę habilitacyjną został poświęcony zagadnieniu wpływu odmiany jabłek oraz technologii przetwarzania jabłek na kształtowanie cech jakościowych soków, a mianowicie na zawartość związków fenolowych, aktywność antyoksydacyjną oraz skład chemiczny i cechy fizyczne przetworów: soków klarownych, soków naturalnie mętnych oraz w wybranych przypadkach przecierów otrzymanych z jabłek.

W trakcie realizacji doświadczeń przeprowadziłem badania klarownych soków jabłkowych dostępnych w Polsce w handlu detalicznym, scharakteryzowałem ich skład metodami zalecanymi przez IFU oraz oceniłem ich parametry jakościowe zgodnie z wymaganiami Kodeksu Praktyki AIJN do Oceny Soków Owocowych i Warzywnych, a ponadto określiłem zawartość związków fenolowych metodą wysokosprawnej chromatografii cieczowej.

W czasie badań zostały wdrożone przeze mnie dwie metody pomiaru aktywności antyoksydacyjnej, charakteryzujące się wysoką korelacją z zawartością związków fenolowych analizowanych chromatograficznie. Metoda z wykorzystaniem stabilnego kationorodnika ABTS^{•+} charakteryzowała się większą precyzją oraz szerszym zakresem roboczym i jest rutynowo stosowana w laboratorium którym kieruję.

Scharakteryzowałem i przebadałem jabłka typowych popularnych odmian deserowych uprawianych w Polsce oraz jabłka nowych perspektywicznych odmian parchoodpornych, które mogą być polecane do sadów przemysłowych czy na plantacje ekologiczne. Dodatkowo, dzięki współpracy z francuską INRA w ramach projektu ISAFRUIT, możliwe było włączenie do badań unikalnych odmian jabłek cydrowych pochodzących z sadów we Francji. Scharakteryzowany pod względem składu chemicznego i zawartości związków fenolowych surowiec przetwarzałem na soki naturalnie mętne oraz soki klarowne, a w wybranych doświadczeniach również na przeciery. W wyniku przeprowadzonych doświadczeń wykazałem, że jabłka popularnych odmian deserowych mogą stanowić surowiec do produkcji przetworów o wysokiej aktywności antyoksydacyjnej i dużej zawartości związków fenolowych, jednak celowe jest zwrócenie uwagi przemysłu przetwórczego na nowe, wartościowe odmiany jabłek.

Doświadczenia, które przeprowadziłem, wykazały, że to właśnie odmiana jabłek jest głównym czynnikiem warunkującym uzyskanie przetworów, w tym soków, o wysokiej aktywności antyoksydacyjnej i dużej zawartości związków fenolowych. Technologia przetwarzania surowca na soki, a szczególnie ograniczanie utleniania w trakcie przerobu, również pozwala na znaczące zwiększenie wartości soków z punktu widzenia zawartości substancji bioaktywnych. Pomimo to rola tego rodzaju zabiegów technologicznych nie jest tak znacząca, jak właściwy dobór przetwarzanej odmiany o wysokiej zawartości antyoksydacyjnej i zawartości związków fenolowych.

4.5. Surowiec do badań, technologia przerobu oraz metody analityczne

4.5.1. Produkty i surowiec do badań

Do badań jakości i autentyczności klarownych przemysłowych soków jabłkowych produkty zakupiono w handlu detalicznym (H.1). Pozostałe badania prowadziłem na przetworach otrzymanych z odmian jabłek zebranych w Sadzie Doświadczalnym Instytutu Ogrodnictwa w Dąbrowicach (H.2 – H.6). Owoce do czasu przerobu na soki (H.2 – H.6) oraz przeciery (H.2, H.3) przechowywano w kontrolowanych warunkach w chłodni doświadczalnej Instytutu Sadownictwa i Kwiaciarnictwa (obecnie Instytutu Ogrodnictwa), do czasu osiągnięcia dojrzałości przerobowej wyznaczanej całkowitym rozłożeniem skrobi, mierzonym testem skrobiowym. W celu zróżnicowania stopnia dojrzałości i określenia jego wpływu na jakość soku niektóre partie owoców przechowywano także przez okres 2 i 4 miesięcy

w różnych warunkach przechowalniczych (H.2). Natomiast badanie przydatności cydrowych odmian jabłek na soki przeprowadzono na surowcu dostarczonym z sadu doświadczalnego należącego do French Institute for Cider Production /Sees, Francja/ (H.4, H.6), również po całkowitym rozłożeniu skrobi w owocach.

Badane krajowe odmiany jabłek, takie jak 'Idared' (18,3% rynku), 'Szampion' (10,5%) oraz 'Jonagold' (9,9%), to odmiany o dominującym znaczeniu gospodarczym (Stankiewicz 2015). Badano również mniej rozpowszechnione w uprawie odmiany, tj. 'Topaz', która jest wartościową odmianą parchoodporną polecaną do sadów ekologicznych (Blazek 2004; Paprstein i wsp. 2006).

Prace, które prowadziłem w ramach projektu ISAFRUIT, pozwoliły na wyselekcjonowanie najbardziej perspektywicznych nowych odmian parchoodpornych. Do odmian parchoodpornych, które mogą być uprawiane w sadach przemysłowych lub ekologicznych, charakteryzujących się wysoką wydajnością tłoczenia i zawartością ekstraktu oraz korzystnymi cechami sensorycznymi należały odmiany wybrane do badań w skali półtechnicznej: 'Ariwa', 'Gold Millenium', 'Florina', 'Melfree', 'Novamac' i 'Rajka' (H.2, H.4, H.6). Odmiany polskie porównano z odmianami francuskimi: 'Ariane', 'Chanteline', 'Judeline', 'Judor' (H.4, H.6). 'Ariane' jest nowym klonem o wysokiej jakości sensorycznej owoców wyhodowanym w INRA, posiadającym gen główny odporności na parcha, natomiast odmiany 'Chanteline', 'Judaine' 'Judeline' i 'Judor' wybrano ze względu na wysoką jakość soku i dobre zrównoważenie pomiędzy zawartością ekstraktu a kwasowością.

4.5.2. Technologie przetwarzania

Produkowałem przeciery jabłkowe z wykorzystaniem rozparzania i przecierania (H.2; H.3), soki klarowne przy zróżnicowanych warunkach obróbki enzymatycznej miazgi i soku surowego (H.2, H.4, H.6), soki naturalnie mętne z dodatkiem kwasu askorbinowego (H.2, H.5, H.6) oraz soki mętne i klarowne wytworzone według technologii stosowanych we Francji (H.6).

Owoce zebrane w stanie dojrzałości zbiorczej przechowywałem przez okres kilku tygodni w chłodni z atmosferą normalną w temperaturze +2,5°C do całkowitej degradacji skrobi, którą określałem za pomocą testu skrobiowego, po czym poddawałem przetwarzaniu.

Linia technologiczna do produkcji przecierów (H.2, H.3) składała się z kociołków parowych z podwójnym płaszczem o ciśnieniu maksymalnym pary 0,3 MPa (ZE.6, Lozamet, Łódź, Polska), przecieraczki łapowej (FMS, Pleszew, Polska), zestawu do próżniowego odpowietrzania przecierów własnej konstrukcji i kotła do pasteryzacji wsadowej (KE 150.8, Lozamet, Łódź, Polska). Przeciery otrzymywałem z owoców krojonych na ćwiartki, rozparzonych w temperaturze 90°C przez 3 minuty. Rozparzone owoce przecierałem za pomocą przecieraczki łapowej o średnicy oczek 1 mm. Przecier

odpowietrzałem próżniowo, pakowałem w słoje szklane (250 g) oraz pasteryzowałem przez 15 minut w 90°C.

Soki klarowne (**H.2; H.3; H.6**) otrzymywałem na linii technologicznej wyposażonej w młynek do miazgi z tarczą perforowaną o średnicy oczek 6 mm (BASIS 91/55, Fryma-Maschinen AG, Rheinfelden, Niemcy). Miazgę poddawałem obróbce w temperaturach 20°C oraz 50°C po podgrzaniu w kociołkach parowych z płaszczem wodnym (ZE.6, Lozamet, Łódź, Polska). Obróbkę enzymatyczną prowadziłem z użyciem preparatu Rohapect MA PLUS (AB Enzymes, Darmstadt, Niemcy) w dawce 100 g/t, w temperaturze 20°C, w ciągu 1 godziny. Miazgę tłoczyłem na prasie przekładkowej typu Bucher. Sok bezpośredni depektynizowałem za pomocą preparatu Rohapect 10 l w dawce 20 g/1000 l w temperaturze 50°C do ujemnego wyniku testu pektynowego, jednak nie krócej niż przez okres 1 godziny. Sok po depektynizacji filtrowałem z dodatkiem ziemi okrzemkowej na laboratoryjnym filtrze ciśnieniowym (Begerow, Langenlonsheim, Niemcy) z płytami filtracyjnymi Europor K7, a następnie rozlewałem na gorąco po podgrzaniu z użyciem pasteryzatora przepływowego (P20-VB, Alfa-Laval Food Engineering, Lund, Szwecja) w temperaturze przekraczającej 92°C i szybkości przepływu umożliwiającej przebywanie soku w wymienniku przez 30 s. Soki w opakowaniach jednostkowych po pasteryzacji chłodziłem w bieżącej wodzie. W innym doświadczeniu (**H.5**) soki klarowne produkowałem przy zastosowaniu obróbki enzymatycznej miazgi za pomocą preparatu Panzym MK (Begerow, Langenlonsheim, Niemcy) w 50°C w dawce 100 g/t przez okres 1 godziny, pozostałe procesy i warunki technologiczne były takie same.

Wpływ warunków obróbki na cechy soków klarownych badałem, stosując typową technologię przetwarzania używaną we Francji (**H.6**), polegającą na tłoczeniu miazgi jabłkowej bez obróbki enzymatycznej, depektynizacji soku surowego w temperaturze 10°C przez okres 12 godzin, mikrofiltracji za pomocą urządzenia Pellicon 2 Durapore 0,5 m²; membrana PVDF 0,45 μm (Millipore SAS, Molsheim, Francja) i gorącego rozlewu z wykorzystaniem wymiennika rurowego.

Soki mętne wytwarzałem poprzez tłoczenie miazgi na prasie przekładkowej (**H.2–H.6**). Miazgę otrzymywałem przez rozdrobnienie owoców na młynie Fryma lub Stossiera (**H.6**), z ciągłym dodatkiem roztworu kwasu L-askorbinowego w takiej proporcji, aby na 1 kg owoców zużywać 200 mg kwasu L-askorbinowego.

Następnie soki surowe wirowałem, stosując wirówkę talerzową o ciągłym przepływie (LAB 102B-25, Alfa Laval, Brentford, Middlesex, Wielka Brytania) przy 1500 rpm (125 x g) lub według technologii francuskich soki były poddawane dekantacji grawitacyjnej (**H.6**) przez okres 12 godzin w temperaturze 10°C.

Soki mętne poddawałem pasteryzacji przepływowej, tak jak soki klarowne i chłodzeniu w opakowaniach jednostkowych w bieżącej wodzie.

4.5.3. Metody analityczne

Tam, gdzie było to możliwe, do badań przetworów stosowałem normatywne metody Międzynarodowej Federacji Soków (IFU – International Fruit and Vegetable Juice Association; <https://www.ifu-fruitjuice.com/>). Do oznaczeń sacharozy i cukrów prostych zastosowałem znormalizowaną metodę HPLC EN 12630. Natomiast oznaczenia zawartości substancji mineralnych (**H.1; H.5**) prowadziłem za pomocą spektrometrii plazmowej ICP-OES.

Oznaczanie związków fenolowych (**H.1 – H.5**) prowadziłem według zmodyfikowanej przeze mnie metody analitycznej Tsao i Yanga (2003). Modyfikacje metody polegały na zastosowaniu nowej kolumny analitycznej o większej zdolności rozdzielczej oraz doborze wymywania gradientowego, w celu uzyskania całkowitego rozdzielstwa interesujących mnie analitów. W celu analizy związków fenolowych w owocach przygotowywano średnią próbkę laboratoryjną poprzez rozdrabnianie owoców w ciekłym azocie (A11 Basic, IKA-WERKE, Niemcy) oraz homogenizację rozdrobnionej próbki w 70% roztworze metanolu (AR Baker), zawierającym 1% kwasu L-askorbinowego, za pomocą homogenizatora (Ultra Turrax® T 25 Basic IKA®-WERKE, Niemcy). Homogenizat przynoszono ilościowo do kolby miarowej na 50 ml i dopełniano do kreski roztworem metanolu stosowanym do homogenizacji. Mieszanie filtrowano przez bibułę Whatman nr 1. Filtrat do czasu analiz przechowywano w temperaturze -18 °C. Próbkę przecierów i soków mętnych poddawano ekstrakcji w 70% metanolu (AR Baker) w łaźni ultradźwiękowej przez 10 minut (soki klarowne analizowano bezpośrednio po ich rozcieńczeniu). Przed analizą HPLC wszystkie próbki rozcieńczano w stosunku 1:3 (v/v) za pomocą roztworu octanu sodu (solwent A). Analizę związków fenolowych prowadzono z wykorzystaniem kolumny Phenomenex® Fusion RP (250 mm × 4,6 mm; 4 µm) z prekolumną (Torrance, CA, USA). Faza ruchoma składała się z roztworu wodnego zawierającego 10,2% kwasu octowego i 2 mmol/l octanu sodu (solwent A) oraz acetonitrylu (solwent B). Przepływ fazy ruchomej wynosił 0,5 ml/min w temperaturze 25°C, a czas analizy wynosił 73 minuty. Zastosowano wymywanie gradientowe: 3% B (0-20 min); 3-17% B (20 min); 17-40% B (25min); 40-90% B (3 min); 90-90% B (4 min); i 90-0% B (1 min). Identyfikację związków fenolowych prowadzono przez porównanie czasów retencji i/lub widm spektralnych w ultrafiolecie ze stosownymi substancjami standardowymi. Wyniki wyrażono w mg/kg lub mg/l badanego materiału.

Oznaczenie aktywności antyoksydacyjnej surowców i przetworów (**H.3; H.5; H.6**) wykonywałem z zastosowaniem kationorodnika ABTS^{•+} wg Re i wsp. (1999), wykorzystując spektrofotometr Cary 3E (Varian, Mulgrave, Australia), stosując zmodyfikowaną procedurę, polegającą na interpolacji do stężenia badanego produktu, przy którym następowała 50-procentowa redukcja aktywności roztworu ABTS^{•+}. W przypadku każdej próbki przeprowadzono co najmniej trzy pomiary reakcji z ABTS^{•+} przy różnych stężeniach próbki, tak aby wartości zmierzone obejmowały zakres redukcji ABTS^{•+}

20–80% (Bartoń i wsp. 2005). Następnie obliczano z zależności liniowej wielkość próbki koniecznej do redukcji roztworu ABTS^{•+} o 50%. Uzyskane wartości wyrażono jako równoważniki Trolox (analog witaminy E) w mg/g owoców i przecierów lub mg/ml soków.

4.6. Wyniki badań

Celem prac przedstawionych w publikacji **H.1** było określenie zawartości związków fenolowych oraz ich autentyczności oraz zbadanie aktywności antyoksydacyjnej handlowych soków jabłkowych. Występował bowiem w literaturze niedostatek danych dotyczących wartości prozdrowotnej soków jabłkowych, na którą, poza zawartością substancji mineralnych, składa się zawartość związków fenolowych związana z aktywnością antyoksydacyjną. Przeprowadzone badania składu i autentyczności soków jabłkowych dostępnych na rynku w roku 2005 dowiodły obecności w handlu soków zafałszowanych. Zafałszowanie dotyczyło zarówno bezwzględnych wymagań jakościowych sekcji A Kodeksu Praktyki do oceny soków owocowych i warzywnych AIJN (2017), takich jak gęstość względna i ekstrakt refraktometryczny, jak i parametrów składu mineralnego, jak np. potasu, którego poziom w sokach zafałszowanych wynosił 524 – 748 mg/l i pozostawał znacznie poniżej dopuszczalnego zakresu wahań określonego w Kodeksie, który wynosi 900 – 1500 mg/l. Ponadto na podstawie analiz cukrów i kwasów organicznych wykazałem, że część zafałszowanych soków była jednocześnie dostadzana i dokwaszana, co było niezgodne nawet z wymaganiami Polskich Norm, które obowiązywały producentów przed wejściem do Unii Europejskiej. W sokach handlowych zbadałem zawartość związków fenolowych, których zawartość korelowała w znacznym stopniu z aktywnością antyoksydacyjną. Ich sumaryczna zawartość wynosiła od 38,8 do 108,4 mg/l dla soków autentycznych oraz od 63,3 do 120,9 mg/l dla soków ocenionych jako zafałszowane (**H.1**). Tak duża zmienność uzyskanych wyników i brak kategoryzacji pomiędzy sokami autentycznymi i rozcieńczonymi sugerowała znaczący wpływ odmiany i możliwy wpływ technologii produkcji. Wskazywało to na konieczność przeprowadzenia badań z wykorzystaniem identyfikowalnego surowca, których wyniki mogą być wykorzystane w przemyśle do standaryzacji i optymalizacji parametrów surowca.

Pozostałe badania wpływu odmiany jabłek i technologii przerobu prowadziłem w ramach grantu zamawianego nr PBZ–KBN–094/P06/2003. Wyniki badań przedstawiłem w publikacjach **H.2**, **H.3** i **H.5**. Wykazałem brak istotnego wpływu przechowywania owoców przed przerobem na zawartość związków fenolowych (**H.2**). Potwierdziłem, że zawartość związków fenolowych w przecierach jabłkowych jest porównywalna z zawartością w owocach, co jest zgodne z danymi literatury (Le Bourvellec i wsp. 2011). Natomiast soki naturalnie mętne charakteryzowały się istotnie niższą zawartością związków fenolowych niż owoce i przeciery, ale istotnie wyższą niż soki klarowne. W sokach z odmiany ‘Szampion’ poziom związków fenolowych był istotnie wyższy niż w sokach z

pozostałych odmian, co mogło mieć związek z niską aktywnością polifenolooksydazy w owocach tej odmiany (Podsędek i wsp. 2000; Kołodziejczyk i wsp. 2010). Soki z odmian często przetwarzanych w skali przemysłowej na soki klarowne, takich jak 'Idared' i 'Jonagold', w moich doświadczeniach zawierały 80 – 100 mg/l związków fenolowych i pod tym względem były porównywalne z sokami pochodzącymi z handlu detalicznego (**H.1**), jak również z doniesieniami innych autorów (Kahle i wsp. 2005; Eisele i Drake 2005). W pracy porównałem wpływ przetwarzania jabłek nowych odmian parchoodpornych na soki mętne i klarowne, wykazując, że przetwarzanie odmian bogatych w związki fenolowe, jak np. odmiany 'Melfree', wiąże się ze znacznie wyższą zawartością tych związków w sokach mętnych wynoszącą 580 mg/l. Wyniki moich badań potwierdzają znaczenie selekcji odmiany do produkcji soków o wysokiej wartości prozdrowotnej związanej z zawartością związków fenolowych.

Pomiary aktywności antyoksydacyjnej owoców i przetworów z jabłek które wykonałem metodą ABTS^{••}, oraz wyniki badań zawartości związków fenolowych (**H.3**), wykazywały bardzo wysoką korelację ($R^2 = 0,973$) co było zgodne z wynikami innych autorów (Gliszczyńska-Świątło i Tyrakowska 2003; Oszmiański i wsp. 2007b). Soki mętne charakteryzowały się aktywnością 44 – 47% w stosunku do owoców. Soki klarowne, które otrzymywałem przy użyciu parametrów obróbki typowych dla przemysłu (obróbka miazgi enzymem Rohapect MA Plus w dawce 100 g/t i temperaturze 20°C w ciągu 1 godziny), zachowały jedynie 24% początkowej aktywności obecnej w owocach. Jednakże gdy zastosowałem enzym Panzym MK w temperaturze 50°C, stwierdziłem zwiększenie aktywności antyoksydacyjnej soków klarownych do poziomu zbliżonego do soków mętnych w przypadku odmiany 'Idared', a w przypadku odmian 'Szampion' i 'Topaz' nawet powyżej. Przeprowadzone doświadczenia potwierdzają znaczący wpływ odmiany jabłek oraz technologii obróbki miazgi jabłkowej przed tłoczeniem na aktywność antyoksydacyjną soków i wskazują możliwości maksymalizacji zawartości związków fenolowych. Ponadto wykazałem, że jakość i wartość prozdrowotną soków można ocenić za pomocą prostej metody spektrofotometrycznej. Ze względu na możliwość praktycznego zastosowania tego rodzaju badań w laboratoriach przemysłowych, wyniki opublikowałem w prasie fachowej o zasięgu krajowym (**H.3**).

Szczegółową charakterystykę przemian związków fenolowych w procesach przetwarzania jabłek na soki klarowne przeprowadziłem dla odmian 'Szampion' i 'Jonagold' (**H.5**) różniących się istotnie, jak to wykazali Oszmiański i Wojdyło (2007a), pod względem zawartości związków fenolowych. Badałem wpływ odmiany na poziom związków fenolowych w sokach otrzymanych przez mnie w porównaniu z sokami przemysłowymi, o średniej zawartości związków fenolowych 95 mg/l. Zastosowanie odmiany 'Szampion' pozwala na uzyskanie średniej zawartości 278 – 386 mg/l związków fenolowych w zależności od technologii obróbki miazgi jabłkowej przed tłoczeniem. Natomiast w przypadku przetwarzania odmiany 'Idared' z zastosowaniem obróbki miazgi preparatem Rohapect MA PLUS

w temperaturze 20°C, często stosowanej w przemyśle ze względu na oszczędności ekonomiczne związane z brakiem konieczności podgrzewania miazgi, zawartość związków fenolowych w sokach wyniosła 99 mg/l, a więc była zbliżona do wartości średniej w sokach przemysłowych. Przeprowadzone prace wskazują na istotność selekcji odmiany w przypadku, gdy kryterium jakościowym będzie wartość prozdrowotna soków.

W pracy **H.4** przeprowadziłem badania, których celem było określenie wpływu odmiany jabłek na cechy jakościowe soków naturalnie mętnych. Do realizacji tego celu wybrałem perspektywiczne odmiany parchoodporne uprawiane w Polsce oraz wyselekcjonowane odmiany cydrowe pochodzące z Francji. Soki mętne charakteryzowały się parametrami zmętnienia spełniającymi kryteria opracowane przed Dietricha i wsp. (1996) dla tego rodzaju produktów i były bogate w błonnik w postaci pektyn rozpuszczalnych w wodzie (200 – 1289 mg/l), przy czym badania wykazały, że zawartość pektyn w odmianach parchoodpornych uprawianych w Polsce była wyższa niż w odmianach francuskich. Zgodnie z rozporządzeniem 1924/2006 PE i Rady z 20 grudnia 2006 r. za produkty o wysokiej zawartości błonnika można uznać takie, które zawierają ponad 6 g/100 g lub przynajmniej 3 g/100 kcal, a za produkty mogące być źródłem błonnika, gdy zawierają ponad 3 g/100 g lub przynajmniej 1,5 g/100 kcal. Przyjmując typową wg tabel żywieniowych kaloryczność soku jabłkowego 45 kcal, za produkty mogące być źródłem błonnika można uznać soki mętne z odmian 'Melfree', 'Novamac' i 'Gold Millenium'. Jednakże przeniesienie wyników ze skali laboratoryjnej do przemysłowej, ze względu na ograniczone możliwości zaopatrywania się w odmiany jabłek o optymalnym stopniu dojrzałości może spowodować, że deklarowanie soków mętnych jako źródła błonnika może być utrudnione.

Wykazałem, że w profilu związków fenolowych kwas chlorogenowy jest dominującym związkiem fenolowym w sokach; drugą grupą pod względem zawartości są flawan-3-ole, natomiast zawartość glikozydów kwercetyny w sokach mętnych jest niska. Jest to związane z występowaniem tych związków w skórce jabłek (Awad i wsp. 2000; Tsao i wsp. 2003; Łata i wsp. 2009), z której związki te nie są ekstrahowane do soków, ze względu na krótki czas przetrzymywania miazgi przed tłoczeniem i brakiem obróbki pektolitycznej. Podkreślenia wymaga znaczne zróżnicowanie zawartości związków fenolowych w sokach mętnych w zależności od odmiany – ich poziom wynosił od 86 mg/l dla odmiany 'Novamac' do 525 mg/l dla odmiany 'Melfree'. Przeprowadzone badania potwierdziły tezę o dominującym wpływie odmiany jabłek na cechy jakościowe soków naturalnie mętnych.

Duże zróżnicowanie zawartości związków fenolowych w sokach mętnych oraz brak wyraźnych różnic w zawartości tych związków pomiędzy francuskimi odmianami cydrowymi i polskimi odmianami parchoodpornymi wskazywały na konieczność przeprowadzenia bardziej szczegółowych badań. W związku z tym zaplanowałem doświadczenie, w którym porównywałem zmiany cech jakościowych

soków mętnych i klarownych otrzymywanych w dwóch różnych laboratoriach w Polsce i Francji za pomocą technologii typowych dla przemysłu w obu krajach (H.6). Wykonałem szeroko zakrojone badania autentyczności soków zgodnie z wymaganiami Kodeksu Praktyki AIJN oraz badania zawartości w nich związków fenolowych. Przeprowadzone pomiary, w odróżnieniu od wcześniejszych prac, obejmowały nie tylko pomiary zawartości mono- i oligomerycznych związków fenolowych w sokach, lecz także pomiary zawartości spolimeryzowanych flawan-3-oli, określanych jako procyjanidyny.

Istotnym wnioskiem z badań składu soków (H.4, H.6) jest odmienny od typowego profil cukrów w odmianach parchoodpornych jabłek. Charakteryzują się one przekroczeniem określonego w Kodeksie Praktyki AIJN poziomu sacharozy (AIJN 2017), co może w konsekwencji powodować zarzuty fałszowania takich soków za pomocą sacharozy w przypadku przetwarzania nowych odmian w przemyśle na rynek soków NFC (nie z soku zagęszczonego) i wskazuje na konieczność modyfikacji maksymalnej wartości w Kodeksie Praktyki lub umieszczenia informacji o możliwych przekroczeniach w komentarzach do zakresów podanych w Kodeksie. Wartości pozostałych badanych parametrów, pomimo incydentalnych odchyień w przypadku niektórych odmian, nie mogły stanowić podstawy do kwestionowania autentyczności soków.

Zastosowanie dwóch odmiennych technologii produkcji soków mętnych (H.6) pozwoliło na określenie istotnego wpływu ograniczenia ilości osadów w produkcie gotowym. Soki mętne produkowane z zastosowaniem wirowania, które powoduje napowietrzenie soku surowego, charakteryzowały się istotnie niższą zawartością związków fenolowych oraz aktywnością antyoksydacyjną niż soki uzyskane metodą sedymentacji i wskazuje na konieczność ograniczania oksydacji w sokach wysokiej jakości (Renard i wsp 2011).

Najbardziej istotna różnica pomiędzy technologią przetwarzania soków we Francji a typową technologią przemysłową w Polsce polegała na braku obróbki enzymatycznej miazgi. Różnica ta, związana ze skróceniem czasu przerobu i ograniczeniem utleniania enzymatycznego związków fenolowych w miazdze w procesie obróbki pektolitycznej, nie wpływała w istotny sposób na charakterystykę parametrów określonych w Kodeksie Praktyki AIJN. Jednakże w badaniach wykazano, że ograniczenie procesów oksydacji powodowało wyższą zawartość związków fenolowych w sokach klarownych.

Porównanie technologii soków mętnych oraz technologii soków klarownych potwierdziło moje wcześniejsze badania oraz doniesienia literaturowe (Oszmiański i wsp. 2007b) wskazujące na istotnie niższą zawartość związków fenolowych w sokach klarownych oraz mniejszą aktywność antyoksydacyjną, a w konsekwencji mniejszą wartość prozdrowotną tych soków w porównaniu z sokami naturalnie mętными. Dla monomerycznych związków fenolowych średnia zawartość wynosiła 195 mg/l dla soków klarownych i 251 mg/l w sokach mętnych, natomiast zawartość procyjanidyn wynosiła odpowiednio 230 i 299 mg/l.

4.7. Omówienie wyników badań w odniesieniu do postawionych celów naukowych

Cel 1. *Ocena wpływu przetwarzanej odmiany jabłek na zawartość związków fenolowych w przetworach jabłkowych.*

W obszarze moich zainteresowań badawczych znajdowały się takie odmiany popularne w uprawie towarowej, jak 'Idared', 'Szampion' i 'Jonagold', odmiany parchoodporne uprawiane w sadach ekologicznych, jak odmiany 'Topaz' i 'Ariwa', perspektywiczne odmiany o dużej odporności na parcha, jak 'Gold Millenium', 'Melfree' i 'Rajka', wreszcie odmiany cydrowe – 'Ariane', 'Judaine', 'Judeline' i 'Judor'. Zagadnieniem badawczym było sprawdzenie, jaki wpływ ma użyta do przetwarzania odmiana jabłek na ogólną zawartość i charakterystykę związków fenolowych w sokach jabłkowych. Dotychczasowe badania mówią o bardzo niskim poziomie polifenoli w sokach jabłkowych (van der Sluis i wsp. 2002) lub silnym zróżnicowaniu zawartości polifenoli w zależności od technologii przetwarzania (Oszmiański i wsp. 2009). Wcześniejsze prace wspominały o aspektach odmianowych w technologii soków (Cliff i Dever 1990), lecz we współczesnej literaturze brak jest odniesienia do odmian obecnie uprawianych. Badaniami objąłem przeciery z jabłek, soki mętne z odmian znajdujących się obecnie w uprawie lub perspektywicznych, wytworzone według technologii umożliwiających ograniczenie oksydacji, z pominięciem procesów obróbki enzymatycznej i z zastosowaniem metod (takich jak wirowanie lub dekantacja) ograniczających powstawanie osadów w gotowym produkcie oraz soki klarowne wytwarzane w skali półtechnicznej z wykorzystaniem procesów symulujących przetwarzanie w skali przemysłowej. W przecierach i sokach oznaczałem zawartość mono- i oligomerycznych związków fenolowych za pomocą metod HPLC, a w wybranych przypadkach również polimerycznych flawan-3-oli.

Niezależnie od odmiany, w porównaniu z surowcem, najwyższą zawartością związków fenolowych charakteryzowały się przeciery jabłkowe, jednakże jest to produkt o niewielkim, w porównaniu z sokami, spożyciu i wykorzystywany głównie w przemyśle cukierniczym i w żywieniu dzieci.

Zastosowanie do produkcji soków NFC deserowych odmian jabłek lub szeroko wykorzystywanej w przetwórstwie uniwersalnej odmiany 'Idared' pozwala na uzyskanie zawartości związków fenolowych znacznie przewyższających soki handlowe odtworzone z soków zagęszczonych. W związku z tym interesujące stało się pytanie o możliwości dalszego zwiększenia zawartości związków fenolowych w sokach. Z tego względu przebadłem nowe parchoodporne odmiany oraz odmiany cydrowe, o wysokiej zawartości związków fenolowych, wykazując możliwości znacznego zwiększenia zawartości związków fenolowych w sokach mętnych z odmian bogatych w związki fenolowe.

Cel 2. Określenie zmian aktywności antyoksydacyjnej w procesach przetwarzania jabłek

*z wykorzystaniem metody spektrofotometrycznej przy użyciu kationorodnika ABTS**.*

Uzyskane wyniki pozwalają stwierdzić, że w przypadku przerobu takich owoców deserowych, jak 'Szampion' i 'Jonagold' oraz odmiany 'Idared' oraz 'Topaz', najmniejsze zmiany aktywności antyoksydacyjnej przetworów zachodzą w procesie przetwarzania na przeciery (**H.3**), których aktywność stanowiła od 81 do 96% aktywności świeżych owoców. W przypadku soków mętnych zachowanie substancji o działaniu antyoksydacyjnym było na średnim poziomie 45% aktywności świeżych owoców. Wartości te są znacznie wyższe od podawanych w literaturze (van der Sluis i wsp. 2002) i mogą świadczyć o tym, że modyfikacja metody otrzymywania soków bezpośrednich może prowadzić do wysokiego stopnia zachowania antyoksydantów w produkcie gotowym. Wśród soków klarownych wyższą aktywność uzyskałem przy przerobie preparatem enzymatycznym Panzym MK w temperaturze 50°C niż przy zastosowaniu enzymu Rohapect MA PLUS w temperaturze 20°C (**H.3; H.5**). Modyfikacja warunków obróbki miazgi przy produkcji soków klarownych wpływa na aktywność antyoksydacyjną gotowego produktu, ponadto zastosowanie właściwych warunków obróbki pozwoliło mi otrzymać soki klarowne o aktywności antyoksydacyjnej zbliżonej do soków naturalnie mętnych. Przebadanie odmian jabłek stosowanych do produkcji cydrów we Francji oraz nowych parchoodpornych odmian uprawianych w Polsce (**H.6**) prowadzi ponadto do wniosku, że obróbka enzymatyczna generalnie obniża zawartości związków fenolowych i właściwości antyoksydacyjne produktu, ale zastosowanie właściwej odmiany pozwala na uzyskanie soków o aktywności antyoksydacyjnej przewyższającej aktywność owoców popularnych odmian deserowych, jak 'Szampion' czy 'Jonagold'. Jednakże w świetle uzyskanych wyników soki naturalnie mętne, charakteryzujące się aktywnością zbliżoną do 50% aktywności owoców oraz zawierające błonnik rozpuszczalny, nieobecny w sokach klarownych, należą do produktów perspektywicznych.

Aktywność antyoksydacyjna zależy głównie od zawartości polifenoli (Gliszczyńska-Świągło i Tyrakowska 2003) – w moich pracach potwierdziłem tę zależność, opierając się na różnych metodach pomiaru aktywności antyoksydacyjnej (metoda DPPH (**H.1**) i ABTS** (**H.3; H.5; H.6**)).

Cel 3. Określenie wpływu technologii produkcji soku, w tym obróbki enzymatycznej, na skład chemiczny soków ich autentyczność oraz zawartość związków fenolowych.

W trakcie prowadzenia doświadczeń przeprowadziłem charakterystykę składu i ocenę autentyczności mętnych (**H.4, H.6**) i klarownych (**H.1, H.6**) soków z jabłek. Soki jabłkowe klarowne i mętne były bogate w kwas jabłkowy i potas. Zawartość pozostałych badanych składników mineralnych: sodu, wapnia, magnezu i fosforu oraz kwasu cytrynowego była na niskim poziomie. Wartości średnie dla większości badanych parametrów mieściły się w zakresach określonych w Kodeksie Praktyki AIJN. Wyjątkiem była

zawartość sacharozy w sokach z mniej znanych takich odmian parchoodpornych, jak 'Florina', 'Melfree', 'Novamac' i 'Rajka'. Uzyskane wyniki wskazują na konieczność modyfikacji dopuszczalnego zakresu zmienności sacharozy w Kodeksie Praktyki wynoszącego od 5 do 30 g/l, w przeciwnym wypadku soki z nowych odmian mogą być traktowane, jako fałszowane sacharozą. Naturalna zmienność zawartości związków fenolowych w sokach jabłkowych (Eisele i Drake 2005) oraz wpływ procesów technologicznych powodowały, że zawartość związków fenolowych w sokach jabłkowych zmieniała się w szerokich granicach. We wszystkich badanych sokach stwierdzono obecność kwasu chlorogenowego, od 33 do 334 mg/l i florydzyiny, od 6 do 34 mg/l. Zawartość kwasu p-kumarylochinowego była zależna od odmiany przetwarzanych owoców. Zawartość glikozydów kwercetyny zależała od technologii przetwarzania – w sokach mętnych występowały w niewielkiej ilości, najwyższe poziomy występowały w sokach klarownych w przypadku zastosowania obróbki pektolitycznej miazgi jabłkowej w temperaturze 50°C. W tych sokach występowała również wolna kwercetyna, której obecność wynikała prawdopodobnie z reakcji rozbijania cząsteczek glikozydów kwercetyny pod wpływem pobocznych aktywności preparatu pektolitycznego. Jednakże nie obserwowałem obecności wolnej kwercetyny w sokach z miazgi obrabianej preparatem Rohapect MA PLUS w 20°C. Może to wynikać z niższej temperatury maceracji i/lub braku pobocznych aktywności zastosowanego preparatu pektolitycznego. Głównym flawanolem w sokach jabłkowych była (-) epikatechina; występowały też niewielkie ilości oligomerycznych flawanoli. W pracy **H.5** oznaczono zawartość spolimeryzowanych flawanoli; ich zawartość wynosiła średnio 240 mg/l i stanowiła 52% całkowitej ilości związków fenolowych. Uzyskane wyniki wskazują na konieczność uwzględnienia tej grupy związków fenolowych w ocenie jakości soków i potwierdzają wyniki badań innych autorów dotyczące istotności oznaczania procyanidyn (Guyot i wsp. 2002). Zawartość spolimeryzowanych flawanoli zależała od odmiany jabłek, najniższą zawartość znaleziono w sokach z odmiany 'Gold Millenium' – od 4 do 145 mg/l, natomiast najwyższą w sokach z odmiany 'Judeline', odpowiednio od 100 do 804 mg/l. Tak duża rozbieżność jest zgodna z wynikami uzyskanymi przez innych autorów (Hammerstone i wsp. 2000; Guyot i wsp. 2003).

Wyniki badań mogą być wykorzystane do oceny autentyczności soków jabłkowych i stworzenia bazy danych oraz zaleceń technologicznych do produkcji soków jabłkowych o wysokiej zawartości związków fenolowych i tym samym wysokiej wartości prozdrowotnej.

4.8. Podsumowanie

Przeprowadzone doświadczenia wykazały zasadność hipotezy o dominującym wpływie odmiany na zawartość związków fenolowych i cechy jakościowe soków.

Wykazałem, że w celu otrzymania soków naturalnie mętnych o wysokiej zawartości prozdrowotnych związków oraz dużej aktywności antyoksydacyjnej należy stosować właściwe odmiany, zawierające znaczną ilość prozdrowotnych substancji. Konieczne jest również ograniczenie utleniania miazgi i soku surowego w procesie produkcji, w tym celu korzystniejszym rozwiązaniem jest zastosowanie naturalnej dekantacji soku przed rozlewem niż wirowanie za pomocą wirówki przepływowej.

Wykazałem, że soki klarowne dostępne w handlu detalicznym charakteryzują się dużą zmiennością zawartości związków fenolowych w zależności od marki soku. Dla soków ocenionych, na podstawie badań, jako autentyczne, średnia zawartość związków fenolowych wynosiła 90 mg/l. Stosując w laboratorium technologie i warunki obróbki zbliżone do przemysłowych oraz wykorzystując do przerobu owoce odmiany 'Idared', najczęściej przetwarzanej w przemyśle, uzyskałem w skali półtechnicznej zbliżone zawartości związków fenolowych do soków handlowych. Jednakże przez zastosowanie odmiany 'Szampion' i zmienionej obróbki enzymatycznej miazgi można uzyskać zawartość związków fenolowych bliską 400 mg/l soku. Natomiast w przypadku przetwarzania owoców odmian parchoodpornych hodowli polskiej, jak odmiana 'Melfree', uzyskuje się zawartość związków fenolowych wynoszącą do 585 mg/l, a więc poziom przekraczający zawartość w owocach typowych odmian deserowych, jak 'Jonagold' i 'Szampion' – odpowiednio 440 i 450 mg/kg owoców. Natomiast przetwarzając odmiany cydrowe jabłek na soki naturalnie mętne, osiągnąłem zawartości związków fenolowych wynoszące nawet 870 – 1083 mg/l.

Ponadto wykazałem, że istnieje wysoka korelacja pomiędzy zawartością związków fenolowych a aktywnością antyoksydacyjną mierzoną metodą spektrofotometryczną przy użyciu kationorodnika ABTS^{•+}.

Przeprowadzone doświadczenia wskazują, że rozwiązanie problemu produkcji soków jabłkowych o wysokiej aktywności antyoksydacyjnej i dużej zawartości związków fenolowych powinno jednocześnie uwzględniać wpływ jakości surowca oraz zastosowanej technologii przetwarzania.

4.9. Kierunek dalszych badań

Znajomość bieżącej literatury, intensywna współpraca z przemysłem sokowniczym, a także uczelniami medycznymi oraz doświadczenie badawcze wynikające z przeprowadzonych prac pozwalają mi na określenie dalszych perspektywnych obszarów badań. Istotnym problemem związanym z jakością soków jabłkowych NFC i soków mętnych, którym chciałbym się zająć w przyszłości jest niska zawartość błonnika, w tym pektyn, w stosunku do surowca, z którego są wytwarzane. Jabłka zawierają średnio 2,4 – 2,7 g/100 g błonnika ogółem (Caballerro i wsp. 2003; USDA 2017), natomiast soki jabłkowe zawierają głównie błonnik rozpuszczalny w ilości 0,2 – 0,4 g/100 ml (USDA 2017). Tymczasem korzystne działanie błonnika pokarmowego jest bardzo szerokie, związane jest z ograniczaniem ryzyka cukrzycy

typu 2, chorób układu krążenia czy nowotworów jelita grubego (Kaczmarczyk i wsp. 2012). Błonnik wpływa również na rodzaj mikroflory zasiedlającej przewód pokarmowy (Tamura i wsp. 2011). Błonnik zawarty w owocach powoduje obniżenie poziomu cholesterolu, jednakże nie obserwuje się tego zjawiska w przypadku soków jabłkowych (Ravn-Haren i wsp. 2013), choć istnieją doniesienia dowodzące korzystnego wpływu soków mętnych na ograniczanie ryzyka nowotworów (Barth i wsp. 2005, 2009). Rozwiązaniem problemu niskiej zawartości błonnika w sokach mętnych może być technologia smoothie owocowych i owocowo-warzywnych, które ponadto są lepszą matrycą transferu związków fenolowych do organizmu człowieka i mogą być bardziej skuteczne w ochronie przed chorobami układu trawiennego niż soki jabłkowe i cydrylicy (Hagl i wsp. 2011), tym bardziej, że zawartość błonnika w smoothies przekracza 1,2 g/100 g (Markowski i wsp. 2017), co umożliwia znakowanie takich produktów jako źródło błonnika. Natomiast w sokach naturalnie mętnych jego zawartość jest wielokrotnie niższa i składa się on głównie z pektyn rozpuszczalnych w wodzie. Z tego względu dalsze badania nad technologią przetwarzania owoców na wysokiej jakości przetwory powinny się koncentrować na technologii soków przecierowych, soków typu smoothie, musów, jak również przecierowych soków warzywnych bądź mieszanych owocowo-warzywnych o tak dobranym składzie przetwarzanych surowców, aby mogły być opatrywane oświadczeniami żywieniowymi zgodnie z rozporządzeniem WE 1924/2006. Produkty te powinny zawierać błonnik rozpuszczalny i nierozpuszczalny w ilości przekraczającej 1,5 g/100 kcal.

Interesującymi zagadnieniami badawczymi w tych technologiach jest interakcja matrycy błonnikowej ze związkami polifenolowymi, zagadnienie stabilizacji zmętnienia i zachowania wartości żywieniowej w okresie przechowywania. Istnieje również konieczność zbadania składu nowych odmian owoców i warzyw oraz określenia ich przydatności do przetwarzania na soki mieszane. Uważam również, że warto się skupić na aspekcie takich innowacyjnych technologii, jak utrwalanie za pomocą mikrofal, wysokich ciśnień, fal radiowych wysokich częstotliwości umożliwiających lepsze zachowanie substancji odżywczych i modyfikację mikrostruktury utrwalanego produktu, co sugerują zmiany lepkości soków przecierowych utrwalanych tradycyjnymi i innowacyjnymi metodami termicznymi (Markowski i wsp. 2017).



Y. Markowski

4.10. Bibliografia

1. AIJN Code of Practice Kodeks Praktyki AIJN. 2017: www.ajjn.org/pages/cop/cop.html
2. Awad M.A., De Jager A., Van Westing L.M. 2000: Flavonoid and chlorogenic acid levels in apple fruit: characterization of variation. *Scientia Horticulturae*, 83: 249–63.

3. Awad M.A., De Jager A. 2003: Influences of air and controlled atmosphere storage on the concentration of potentially healthful phenolics in apples and other fruits. *Postharvest Biology and Technology*, 27: 53–58.
4. Barth S.W., Fährndrich C., Bub A., Dietrich H., Watzl B., Will F., Briviba K., Rechkemmer G. 2005: Cloudy apple juice decreases DNA damage, hyperproliferation and aberrant crypt foci development in the distal colon of DMH-initiated rats. *Carcinogenesis*, 26 (8): 1414–1421.
5. Barth S.W., Fährndrich Ch., Bub A., Watzl B., Will F., Dietrich H., Rechkemmer G., Briviba K. 2007: Cloudy apple juice is more effective than apple polyphenols and an apple juice derived cloud fraction in a rat model of colon carcinogenesis. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 55(4): 1181–1187.
6. Bartoń H., Fołta M., Zachwieja Z. 2005: Zastosowanie metod FRAP, ABTS⁺ i DPPH w badaniu aktywności antyoksydacyjnej produktów spożywczych. *Nowiny Lekarskie*, 74, 4: 510–513.
7. Begić-Akagić A., Spaho N., Oručević S., Drkenda P., Kurtović M., Gaši F., Kopjar M., Piližota V. 2011: Influence of cultivar, storage time, and processing on the phenol content of cloudy apple juice. *Croatian Journal of Food Science and Technology*, 3(2): 1–8.
8. Blazek J. 2004: Response to diseases in new apple cultivars from the Czech Republic. *Journal of Fruit and Ornamental Plant Research*, 12: 241–249.
9. Boyer J., Liu R.H. 2004: Apple phytochemicals and their health benefits. *Nutrition Journal*, 3(5): 5–19.
10. Cabalero B., Truga L.C., Finglass P.M. 2003. *Encyclopaedia of Food Sciences and Nutrition*. 2nd ed. United Kingdom: Academic Press.
11. Carter P., Laura J., Gray L.J. 2005: Fruit and vegetable intake and incidence of type 2 diabetes mellitus: systematic review and meta-analysis. *Annual Reviews of Public Health*, 26: 445–67.
12. Cliff M., Dever M. 1990: Characterization of varietal apple juices. *Canadian Institute of Food Science and Technology Journal*, 23, 4/5: 217–222.
13. Czynczyk A., Bielicki P., Mika A., Krawiec A. 2005: Growth and yielding in six scab resistant apple cultivars grafted on three dwarfing rootstocks in integrated fruit production. *Journal of Fruit and Ornamental Plant Research*, 13: 19–23.
14. Dietrich H., Gierschner K., Pecoroni S., Zimmer E., Will F. 1996: Neuere Erkenntnisse zu dem Phänomen der Trübungsstabilität – Erste Ergebnisse aus einem Forschungsprogramm. *Flussiges Obst*, 63: 7–10.
15. Dietrich H., Rechner A., Patz C.D., Bitsch R., Böhm V., Bitsch I. 2003: Einfluss der Verarbeitung auf die phenolischen Antioxidanzien von Apfelsäften. *Deutsche Lebensmittel-Rundschau*, 99: 1–11.
16. Eisele T.A., Drake S.R. 2005: The partial compositional characteristics of apple juice from 175 apple varieties. *Journal of Food Composition and Analysis*, 18: 213–221.
17. Francou A., Hebel P., Braesco V., Drewnowski A. 2015: Consumption patterns of fruit and vegetable juices and dietary nutrient density among French children and adults. *Nutrients*, 7(8): 6073–6087.
18. Gliszczyńska-Świąła A., Tyrakowska B. 2003: Quality of commercial apple juices evaluated on the basis of the polyphenol content and the TEAC antioxidant activity. *Journal of Food Science*, 68, 5: 1844–1849.
19. Golding J.B., McGlasson W.B., Wyllie S.G., Leach D.N. 2001: Fate of apple peel phenolics during cool storage. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49: 2283–2289.
20. Guyot S., Marnet N., Sanoner P., Drilleau J.-F. 2003: Variability of the polyphenolic composition of cider apple (*Malus domestica*) fruits and juices. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(21): 6240–6247.
21. Guyot S., Le Bourvellec C., Marnet N., Drilleau J.F. 2002: Procyanidins are the most abundant polyphenols in dessert apples at maturity. *Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie*, 35: 289–291.
22. Hagl S., Deusser H., Soyalan B., Janzowski C., Will F., Dietrich H., Albert F. W., Rohner S., Richling E. 2011: Colonic availability of polyphenols and D-(–)-quinic acid after apple smoothie consumption. *Molecular Nutrition and Food Research*, 55: 368–377.
23. Hammerstone J.F., Lazarus, S.A., Schmitz H.H. 2000: Procyanidin Content and Variation in Some Commonly Consumed Foods. *The Journal of Nutrition*, 130 (8):20865–20925.
24. Hertog M.G.L., Hollman P.C.H., Katan M.B., Kromhout D. 1993: Intake of potentially anticarcinogenic flavonoids and their determinants in adults in the Netherlands. *Nutrition and Cancer* 20: 21–29.
25. Hu F.B. 2013: Resolved: there is sufficient scientific evidence that decreasing sugar-sweetened beverage consumption will reduce the prevalence of obesity and obesity-related diseases. *Obesity Reviews*, 14(8): 606–619.
26. Hubert B., Baron A., Le Querre J.-M., Renard C.M.G.C. 2007: Influence of prefermentary clarification on the composition of apple must. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55: 5118–5122.

27. Kaczmarczyk M.M., Miller M.J., Freund G.G. 2012: The health benefits of dietary fiber: beyond the usual suspects of type 2 diabetes mellitus, cardiovascular disease and colon cancer. *Metabolism*, 61(8): 1058–1066.
28. Kahle K., Krau M., Richling E. 2005: Polyphenol profiles of apple juices. *Molecular Nutrition and Food Research*, 49: 797–806.
29. Kołodziejczyk K., Milala J., Sójka M., Kosmala M., Markowski J. 2010: Polyphenol oxidase activity in selected apple cultivars. *Journal of Fruit and Ornamental Plant Research*, 8(2): 51–61.
30. Le Bourvellec C.L., Bouzerzour K., Ginies C., Regis S., Ple Y., Renard C.M.G.C. 2011: Phenolic and polysaccharidic composition of applesauce is close to that of apple flesh. *Journal of Food Composition and Analysis*, 24(4–5): 537–547.
31. Licht T.R., Hansen M., Bergström A., Poulsen M., Krath B.N., Markowski J., Dragsted L.O., Wilcks A. 2010: Effects of apples and specific apple components on the caecal environment of conventional rats: role of apple pectin. *BMC Microbiology*, 10: 13.
32. Łata B., Przeradzka M., Binkowska M. 2005: Great differences in antioxidant properties exist between 56 apple cultivars and vegetation seasons. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53: 8970–8978.
33. Łata B., Tomala K. 2007: Apple peel as a contributor to whole fruit quantity of potentially healthful bioactive compounds. Cultivar and year implication. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55: 10795–10802.
34. Łata B., Trampczynska A., Paczesna J. 2009: Cultivar variation in apple peel and whole fruit phenolic composition. *Scientia Horticulturae*, 121: 176–181.
35. Łysoń P. (red.) 2016: Budżety gospodarstw domowych w 2015 r. GUS, Departament Badań Społecznych i Warunków Życia, Zakład Wydawnictw Statystycznych, Warszawa, 168.
36. Manach C., Scalbert A., Morand C., Remey C., Jimenez L. 2004: Polyphenols: food sources and bioavailability. *American Journal of Clinical Nutrition*, 79: 727–747.
37. Markowski J., Celejewska K., Rosłonek A., Kosmala M. 2017: Impact of different thermal preservation technologies on the quality of apple-based smoothies. *LWT – Food Science and Technology*, accepted manuscript available online: 3-JAN-2017, DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2017.01.004>.
38. Matthes A., Schmitz-Eiberger M. 2009: Polyphenol content and antioxidant capacity of apple fruit: effect of cultivar and storage conditions. *Journal of Applied Botany and Food Quality*, 82: 152–157.
39. Mazur J. (red.) 2015: Zdrowie i zachowania zdrowotne młodzieży szkolnej w Polsce na tle wybranych uwarunkowań socjodemograficznych. Wyniki badań HBSC 2014. IMiD, Warszawa http://www.imid.med.pl/images/do-pobrania/Zdrowie_i_zachowania_zdrowotne_www.pdf
40. Michalev K., Schieber A., Mollov P., Carle R. 2004: Effect of mash maceration on the polyphenolic content and visual quality attributes of cloudy apple juice. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52: 7306–7310.
41. Nagy S., Chen C.H., Shaw P.E. 1993: Fruit juice processing technology, Florida, USA: AGSCIENCE, ISBN 0-9631397-1-1, 286.
42. Nosecka B. (red.) 2016: Rynek owoców i warzyw stan i perspektywy. Analizy Rynkowe, Nr 49, czerwiec 2016.
43. Oszmiański J., Wojdyło A. 2007a: Effects of various clarification treatments on phenolic compounds and color of apple juice. *European Food Research and Technology*, 224: 755–762.
44. Oszmiański J., Wolniak M., Wojdyło A., Wawer I. 2007b: Comparative study of polyphenolic content and antiradical activity of cloudy and clear apple juices. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 87: 573–579.
45. Oszmiański J., Wojdyło A., Kolniak J. 2009: Effect of enzymatic mash treatment and storage on phenolic composition, antioxidant activity, and turbidity of cloudy apple juice. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(15): 7078–7085.
46. O’Neil C.E., Nicklas T.A., Zhanovec M., Kleinman R.E., Fulgoni V.L. 2012: Fruit juice consumption is associated with improved nutrient adequacy in children and adolescents: the National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES) 2003–2006. *Public Health Nutrition*, 15(10): 1871–1878.
47. Paprstein F., Blazek J., Michalek S. 2006: Effects of climatic conditions on fruit quality of apple cultivars assessed by public sensory evaluations in the Czech and Slovak Republics 1999–2004. *Journal of Fruit and Ornamental Plant Research*, 14(2): 217–226.
48. Płocharski W., Markowski J., Nosecka B., Pytasz U., Rutkowski K., Stoś K. 2013: Owoce, warzywa, soki – ich kaloryczność i wartość odżywcza na tle zapotrzebowania na energię i składniki odżywcze cz. 5. Spożycie składników odżywczych w owocach, warzywach i przetworach z owoców i warzyw. *Przemysł Fermentacyjny i Owocowo Warzywny*, 4: 22–29.

49. Płocharski W., Markowski J., Groele B., Stoś K. 2016: Owoce, warzywa i soki w zaleceniach żywieniowych – kontrowersje dotyczące spożycia. *Przemysł Fermentacyjny i Owocowo Warzywny*, 7–8: 16–21.
50. Podsędek A., Wilska-Jeszka J., Anders B., Markowski J. 2000: Compositional characterization of some apple varieties. *European Food Research and Technology*, 210: 268–272.
51. Ravn-Haren G., Dragsted L.O., Buch-Andersen T., Jensen E.N., Jensen I.J., Nemeth-Balogh M., Paulovicsova B., Bergstorm A., Wilcks A., Licht T.R., Markowski J., Bugel S. 2013: Intake of whole apples or clear apple juice has contrasting effects on plasma lipids in healthy volunteers. *European Journal of Nutrition*, 52: 1875–1889.
52. Re R., Pellegrini N., Proteggente A., Pannala A., Yang M., Rice-Evans C.A. 1999: Antioxidant activity applying an improved ABTS \cdot^+ radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*, 26 (9–10): 1231–1237.
53. Renard C.M.G.C., Le Quére J.-M., Bauduin R., Symoneaux R., Le Bourvelec C., Baron A. 2011: Modulating polyphenolic composition and organoleptic properties of apple juices by manipulating the pressing conditions. *Food Chemistry*, 124:117–125.
54. Sanoner P., Guyot S., Marnet N., Molle D., Drilleau J.P. 1999: Polyphenol profiles of French cider apple varieties (*Malus domestica* sp.). *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 47: 4847–4853.
55. Scalbert A., Williamson G. 2000: Dietary intake and bioavailability of polyphenols. *Journal of Nutrition*, 130: 2073–2085.
56. Stankiewicz D. 2015: Rynek polskich jabłek. Analizy nr 14 (134). Biuro Analiz Sejmowych. [http://orka.sejm.gov.pl/WydBAS.nsf/0/92450DA44BF8097EC1257EED0043F7BC/\\$file/Analiza_BAS_2015_134.pdf](http://orka.sejm.gov.pl/WydBAS.nsf/0/92450DA44BF8097EC1257EED0043F7BC/$file/Analiza_BAS_2015_134.pdf)
57. Tamura M., Ohnishi Y., Kotani T., Gato N. 2011: Effects of new dietary fiber from japanese apricot (*Prunus mume* Sieb. et Zucc.) on gut function and intestinal microflora in adult mice. *International Journal of Molecular Sciences*, 12: 2088–2099.
58. Thielen C., Will F., Zacharlas J., Dietrich H., Jacob H. 2004: Polyphenols in apples: Distribution of polyphenols in apple tissue and comparison of fruit and juice. *Deutsche Lebensmittel-Rundschau*, 100: 389–98.
59. Trojanowicz P. 2015: Dynamiczny rozwój rynku soków NFC w Polsce. *Przemysł Fermentacyjny i Owocowo Warzywny*, 7-8, *Dodatek specjalny: soki NFC*: 59-67.
60. Tsao R., Yang R. 2003: Optimization of a new mobile phase to know the complex and real polyphenolic composition: towards a total phenolic index using high-performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography*, A 1018: 29–40.
61. Tsao R., Yang R., Young J.C., Zhu H. 2003: Polyphenolic profiles in eight apple cultivars using high-performance liquid chromatography (HPLC). *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 51: 6347–6553.
62. USDA 2016. Dietary guidelines for Americans 2015–2020, eight edition. <http://health.gov/dietaryguidelines/2015/guidelines/>
63. USDA 2017: National Nutrient Database for Standard Reference Release 28. <https://ndb.nal.usda.gov/ndb/search/list>
64. WHO 2003: Diet nutrition and the prevention of chronic diseases. Technical report series 916. http://whqlibdoc.who.int/trs/WHO_TRS_916.pdf?ua=1?
65. WHO 2012: Health 2020 – policy framework and strategy. Regional Committee for Europe, Sixty-second session, Malta, 10–13 September 2012. http://dataplan.info/img_upload/f5416b362b7c89b68743d3448693cc90/health-2020-policy-framework-and-strategy.pdf
66. Wilczyńska A., Retel M. 2011: Oszacowanie pobrania związków fenolowych z dietą z uwzględnieniem udziału miodów pszczelich. *Problemy Higieny i Epidemiologii*, 92(4): 709–712.
67. Włodarska K., Pawlak-Lemańska K., Górecki T., Sikorska E. 2016: Perception of apple juice: a comparison of physicochemical measurements, descriptive analysis and consumer responses. *Journal of Food Quality*, 39(4): 351–361. Yahia E.M. 2009: The contribution of fruit and vegetable consumption to human health. *Postharvest Technology for Horticultural Crops*, Research Signpost Publisher, Kerala, Editors: N. Benkeblia, 139–163.
68. van der Sluis A., Dekker M., Skrede G., Jongen W.M. 2002: Activity and concentration of polyphenolic antioxidants in apple juice. Effect of existing production methods. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 50: 7211–7219.