

Zestawienie wyników badań realizacji operacji pt. „Opracowanie innowacyjnych produktów na bazie suszu z ekologicznie uprawianej soplówki jeżowatej (*Hericium erinaceus*) o wysokich parametrach jakościowych i funkcjonalnych”, umowa o dofinansowanie nr 00048.DDD.6509.00252.2022.15

ETAP 3: Opracowanie pilotażowej linii przemysłowej technologii wytwarzania produktów na bazie suszu z owocników soplówki jeżowatej

Zasadniczym celem realizacji prac badawczych w etapie 3 było wprowadzenie dwóch produktów na bazie suszu z soplówki jeżowatej:

- I. Otrzymany w warunkach higienicznych susz kapsułkowany zawierający dodatek mikrokapsułek z wyciągów z aronii



W celu opracowania tego produktu wykonano szereg prac badawczych, których wyniki obejmowały:

1. Opracowanie i optymalizacja technologii mikrokapsułkowania ekstraktu pozyskanego z wyciągów z aronii z wykorzystaniem suszenia rozpyłowego.

Mikrokapsułki opracowano z wykorzystaniem trzech różnych temperatur suszenia (200°C, 180°C, 160°C), stosując kudzu i inulinę jako materiał powłokowy. Przechowywanie próbek przez 60 dni w temperaturze -20°C i 4°C pozwoliło na ocenę stabilności bioaktywnych

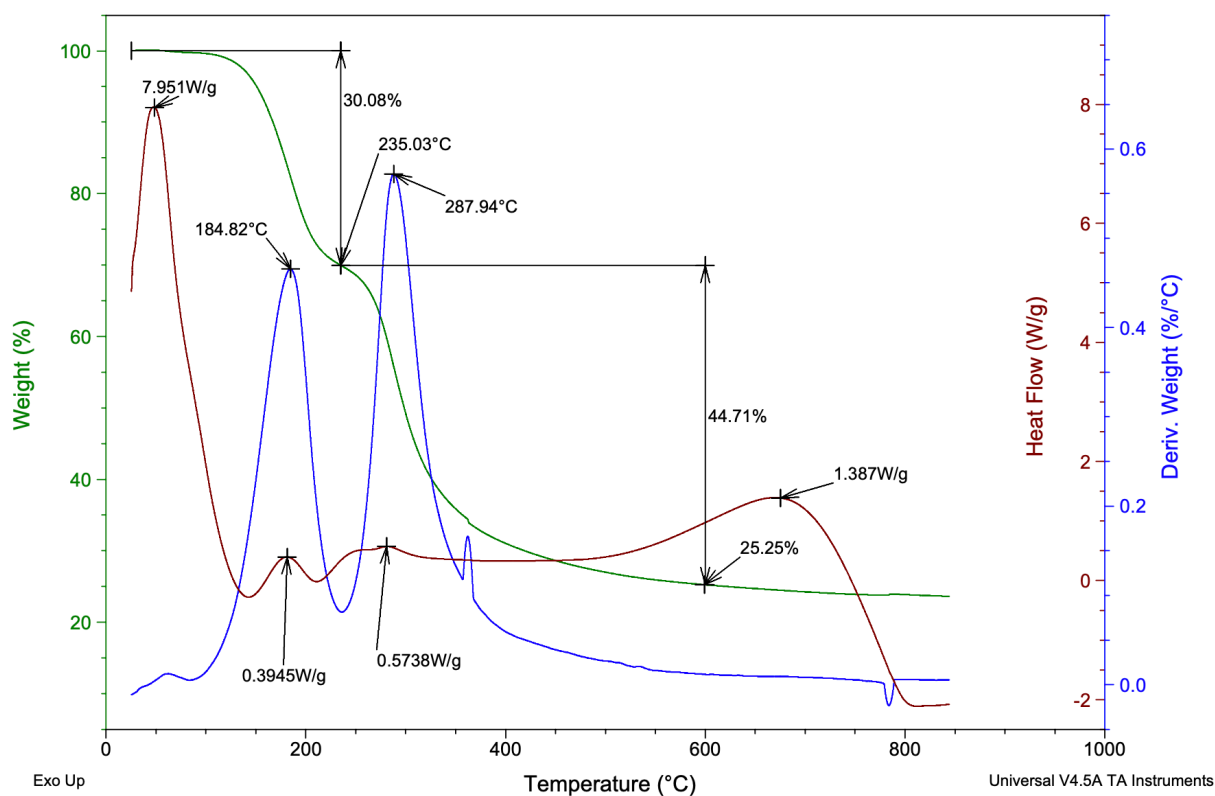
związków w czasie. W tym celu, przygotowano mieszaninę do mikrokapsułkowania, łącząc 2-procentowe roztwory kudzu i inuliny z ekstraktem z wyłoków aronii czarnej w stosunku objętościowym 0,5:0,5:1,0. Gotową mieszaninę zasilającą wprowadzono do suszarki rozpyłowej UNOPEX B15 Mini Spray Dryer, przy jednoczesnym ciągłym mieszaniu na mieszadle magnetycznym, co gwarantowało jednorodność zawiesiny podczas całego procesu suszenia. Proces suszenia rozpyłowego przeprowadzono z wykorzystaniem następujących parametrów operacyjnych: natężenie przepływu roztworu zasilającego wynosiło 2 ml/min, natężenie przepływu powietrza atomizującego ustawiono na poziomie 6 l/min, a natężenie przepływu powietrza suszącego (wydajność aspiratora) utrzymywano na poziomie 50%. W celu określenia optymalnych warunków mikrokapsułkowania ekstraktu z wyłoków aronii, przy użyciu procesu suszenia rozpyłowego, badania przeprowadzono przy trzech różnych temperaturach powietrza wlotowego: 200°C (mikrokapsułki M200), 180°C (M180) oraz 160°C (M160). Natężenie przepływu roztworu zasilającego, natężenie przepływu powietrza atomizującego oraz wydajność aspiratora były utrzymywane na stałym poziomie. Poniżej zamieszczono przykładowe zdjęcie uzyskanych mikrokapsułek.



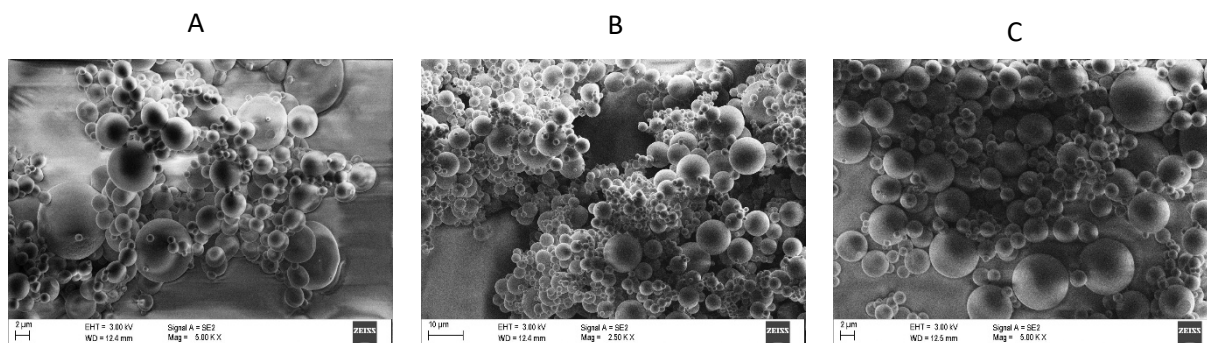
Opracowany sposób produkcji mikrokapsułek zapewnił otrzymanie produktu o wysokiej zawartości związków bioaktywnych i wysokiej stabilności, co zostało poparte uzyskanymi wynikami badań naukowych charakteryzujących mikrokapsułki, tj.:

a) Wyniki analizy termicznej DSC

Pomiar właściwości termofizycznych mikrokapsułek dokonano przy pomocy jednoczesnej analizy termicznej dwiema oddzielnymi metodami, tj. różnicowej kalorymetrii skaningowej (DSC) oraz analizy termogravimetrycznej (TGA). Pomiary wykonano w atmosferze argonu w zakresie temperatur 20-850°C. Przebadane próby mikrokapsułek M160, M180 i M200 charakteryzowały się bardzo podobnymi właściwościami termofizycznymi. Wszystkie próby charakteryzowały się ubytkiem masy w wysokości ok. 30% do temperatury 230°C i dalej ok. 45% do temperatury 600°C. Temperatura topnienia wyniosła 184°C i 288°C. Przemiany termiczne zachodzące w mikrokapsułkach przedstawiono poniżej.

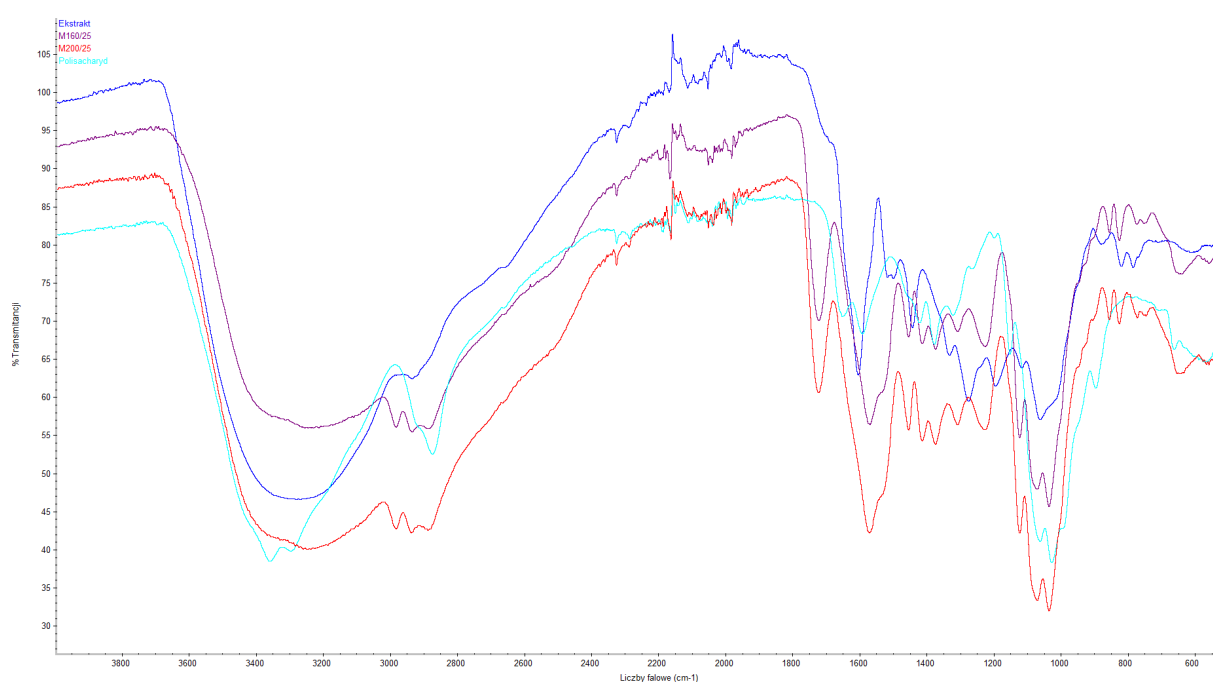


b) Wielkość mikrokapsułek ustalona na podstawie obrazowania SEM zawierała się w zakresie Od 200 nm do 10 µm, co przedstawiono na poniższych ilustracjach (A – próbka M200, B – próbka M180, C – próbka M160).



c) Wyniki badania składu mikrokapsułek metodą spektroskopii FTIR

Wszystkie próby mikrokapsułek: M160, M180 oraz M200 scharakteryzowano przy pomocy spektroskopii FTIR.



W próbach M160, M180 i M200 widoczne są pasma charakterystyczne dla zastosowanego polisacharydu, czyli pasmo 2870 cm^{-1} oraz 1650 cm^{-1} . Powyższe pasma dowodzą, że mikrokapsułki zbudowane są z zastosowanego polisacharydu (skrobia kudzu, inulina). Ponadto, w próbach M160, M180 i M200 widoczne jest pasmo charakterystyczne dla ekstraktu, czyli 1560 cm^{-1} . W związku z powyższym, na podstawie przeprowadzonej analizy FTIR stwierdza się, że przygotowane mikrokapsułki M160, M180 i M200 zbudowane są z ekstraktu oraz polisacharydu.

d) Wyniki badań jakości mikrobiologicznej i potencjału antyoksydacyjnego mikrokapsułek wykonane metodami chemicznymi i elektrochemicznymi

Dla otrzymanych mikrokapsułek wykonane zostały badania mające na celu oznaczanie ich zanieczyszczenia mikrobiologicznego oraz potencjału antyoksydacyjnego bezpośrednio po wytworzeniu i po ich przechowywaniu (mikrokapsułki przechowywano w szklanych pojemnikach w temperaturze -20°C oraz 4°C, maksymalnie przez okres 60 dni).



W poniższej tabeli przedstawiono uzyskane wyniki wykonanych badań.

rodzaj mikro kapsułek	średnia I-ba bakterii [jtk/g]	średnia I-ba drożdży i pleśni [jtk/g]	obecność patogenów (★)/10 g	średnia ABTS [μmol Tx/g]	średnia DPPH [μmol Tx/g]	średni indeks IE (CV) [VxμA/1g]	średni indeks IE (SWV) [VxμA/1g]
M160	<10	<10	nie wykryto	3869	490	352	314
M160/60/-20	<10	<10	nie wykryto	3826	483	349	311
M160/60/4	<10	<10	nie wykryto	3696	452	302	281
M180	<10	<10	nie wykryto	3919	502	364	335
M180/60/-20	<10	<10	nie wykryto	3897	498	358	331
M180/60/4	<10	<10	nie wykryto	3713	473	336	319
M200	<10	<10	nie wykryto	4124	534	387	346
M200/60/-20	<10	<10	nie wykryto	4004	521	374	332
M200/60/4	<10	<10	nie wykryto	3875	502	351	311
legenda							
M160, M180, M200	mikrokapsułki badane bezpośrednio po otrzymaniu						
M.../60/-20	mikrokapsułki badane po 60-ciu dniach ich przechowywania w -20°C						
M.../60/4	mikrokapsułki badane po 60-ciu dniach ich przechowywania w 4°C						
(★) - E. coli, Staphylococcus aureus, Listeria monocytogenes, Salmonella							

Na podstawie uzyskanych wyników badań ustalono, że mikro kapsułki M200 charakteryzowały się najwyższymi wskaźnikami potencjału antyoksydacyjnego. Opracowana technologia produkcji mikro kapsułek prowadzona w warunkach higienicznych zagwarantowała brak wykrywalności wszystkich badanych grup drobnoustrojów. Susz przechowywany w temperaturze -20°C, po 60-ciu dniach przechowywania wykazywał spadek aktywności na poziomie kilku procent.

- e) Uwalnianie substancji bioaktywnych in vitro wykazało, że w trakcie 2,5 godziny dochodzi do uwolnienia 50% substancji bioaktywnych, a całkowite ich uwolnienie następuje po okresie 8 godzin.

2. Opracowanie składu produktu na bazie suszu z owocników soplówki jeżowatej i mikro kapsułek z wyłoków z aronii oraz wykonanie badań przechowalniczych

Analiza wyników badań mikro kapsułek z aronii wskazała na to, że najlepsze parametry funkcjonalne posiadały mikro kapsułki M200, w związku z tym te mikro kapsułki wykorzystano jako dodatek do suszu z owocników soplówki jeżowatej. Planowany poziom wzrostu potencjału antyoksydacyjnego produktu poprzez zastosowanie mikro kapsułek z aronii miał wynieść 30%, natomiast przy dodatku 3% (w/w) uzyskano jego wzrost o 43%. Z kolei

oznaczanie zawartości β - i α -glukanów umożliwiło ich standaryzację na poziomie 28%. Otrzymaną mieszaninę kapsułkowano w warunkach higienicznych z wykorzystaniem prototypowej kapsułkarki i następnie kapsułki pakowano do stoików z ciemnego szkła. Tak przygotowane próby zostały poddane badaniom przechowalniczym przez okres 60-ciu dni. W poniższej tabeli zestawiono wyniki badań produktu wykonane bezpośrednio po wytworzeniu oraz po ich przechowywaniu w temperaturze pokojowej.

produkt/kapsułkowa ny susz z mikrokapsułkami z aronii	standardowa suszarnia/standardowa kapsułkarka	prototypowa suszarnia/standar dowa kapsułkarka	prototypowa suszarnia/prototy powa kapsułkarka/0	prototypowa suszarnia/prototy powa kapsułkarka/60
średnia l-ba bakterii [jtk/g]	2423,00	1054,00	426,00	389,00
średnia l-ba drożdży i pleśni [jtk/g]	876,00	602,00	287,00	254,00
ogólna l-ba drobnoustrojów [jtk/g]	3299,00	1656,00	713,00	643,00
% redukcji ogólnej l-by drobn.		49,80	78,39	80,51
obecność patogenów (★)/25 g	nie wykryto	nie wykryto	nie wykryto	nie wykryto
średnia ABTS [mM Tx/dm ³]	5,90	6,20	7,70	7,40
wzrost wartości [%]		5,08	30,50	16,21
średnia DPPH [mM Tx/dm ³]	0,82	0,94	1,07	0,98
wzrost wartości [%]		14,63	30,48	19,51
średni indeks IE (CV) [Vx μ A/100g]	524,00	631,00	685,00	669,00
wzrost wartości [%]		20,41	30,72	27,67
średni indeks IE (SWV) [Vx μ A/100 g]	542,00	602,00	708,00	688,00
wzrost wartości [%]		11,07	30,62	26,94
średnia zawartość alfa i beta glukanów [% w/w]	18,28	21,12	28,68	29,14
wzrost wartości [%]		15,53	56,89	59,41
legenda				
prototypowa kapsułkarka/0 - produkt bezpośrednio po produkcji				
prototypowa kapsułkarka/60 - produkt przechowywany przez 60 dni w temp. pokojowej				
(★) - E. coli, Staphylococcus aureus, Listeria monocytogenes, Salmonella				

Rozpatrując wyniki zestawione w tabeli można stwierdzić, że kapsułkowany produkt na bazie suszu z owocników soplówki jeżowatej, w stosunku do standardowo otrzymywanego, spełnił zakładane w projekcie wskaźniki:

- wysoki stopień czystości mikrobiologicznej - redukcja liczby pleśni i ogólnej liczby drobnoustrojów na poziomie ponad 78% (planowany wskaźnik - o co najmniej 30%),
- nieobecność drobnoustrojów patogennych: *E. coli*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* w 25 g
- zawartość β - i α -glukanów wyższa o ponad 56% (planowany wskaźnik - o co najmniej 25%)
- aktywność przeciwutleniająca wyższa o co najmniej 30%, potwierdzona metodami chemicznymi i elektrochemicznymi.

II. Otrzymany w warunkach higienicznych kapsułkowany susz z owocników soplówki jeżowatej





Uzyskane wyniki oznaczania zawartości β - i α -glukanów i ocena potencjału antyoksydacyjnego wskazują na wysoką funkcjonalność prozdrowotną opracowanych produktów, natomiast wysoki poziom bezpieczeństwa mikrobiologicznego potwierdzają wyniki badań wykonanych w trakcie realizacji projektu oraz w Akredytowanym Laboratorium Badań Żywności J.S. Hamilton. Standaryzacja produktów na zawartość β - i α -glukanów wykazała ich zawartość na poziomie ponad 30%. Kapsułkowany susz umieszczono w szklanych słoikach z ciemnego szkła i poddano go próbom przechowalniczym. Uzyskane wyniki badań kapsułkowanego suszu bezpośrednio po jego wytworzeniu oraz po 60-ciu dniach jego przechowywania zostały zestawione w poniżej tabeli.

produkt/susz kapsułkowany	standardowa suszarnia/standardowa kapsułkarka	prototypowa suszarnia/standardowa kapsułkarka	prototypowa suszarnia/prototypowa kapsułkarka/0	prototypowa suszarnia/prototypowa kapsułkarka/60
średnia l-ba bakterii [jtk/g]	2956,00	1287,00	882,00	789,00
średnia l-ba drożdży i pleśni [jtk/g]	1046,00	762,00	543,00	556,00
ogólna l-ba drobnoustrojów [jtk/g]	4002,00	2049,00	1425,00	545,00
redukcja ogólnej l-by drobn. [%]		48,80	64,39	66,39
obecność patogenów (★)/25 g	nie wykryto	nie wykryto	nie wykryto	nie wykryto
średnia ABTS [mM Tx/dm ³]	4,48	5,05	5,70	4,93
zmiana [%]		12,70	27,00	10,00
średnia DPPH [mM Tx/dm ³]	0,63	0,72	0,79	0,73
zmiana [%]		14,28	25,39	15,87
średni indeks IE (CV) [VxμA/100g]	401,00	482,00	507,00	464,00
zmiana [%]		20,19	26,43	15,71
średni indeks IE (SWV) [VxμA/100 g]	415,00	455,00	523,00	477,00
zmiana [%]		9,64	26,02	15,78
średnia zawartość alfa i beta glukanów [% w/w]	20,05	21,60	32,15	36,41
zmiana [%]		7,73	60,35	81,60
legenda				
prototypowa kapsułkarka/0 - produkt bezpośrednio po produkcji				
prototypowa kapsułkarka/60 - produkt przechowywany przez 60 dni w temp. pokojowej				
(★) - E. coli, Staphylococcus aureus, Listeria monocytogenes, Salmonella				

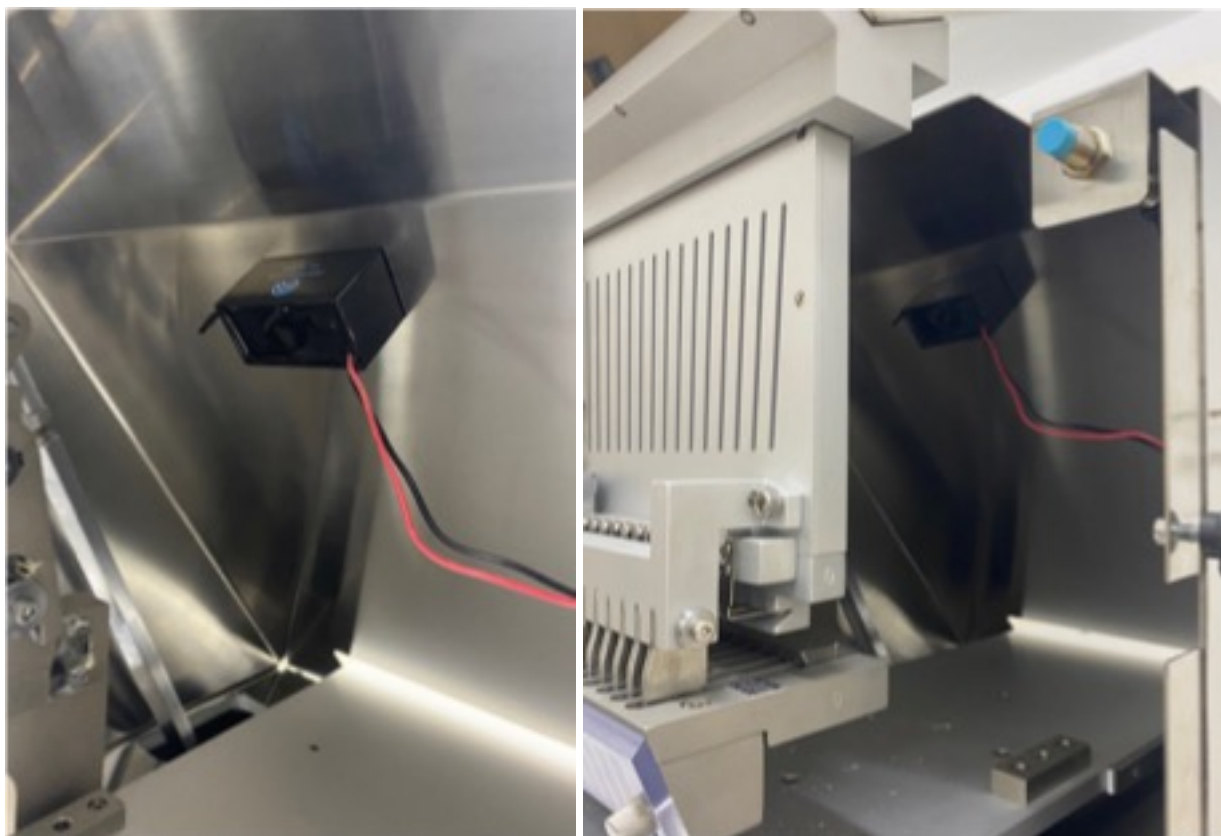
Na podstawie uzyskanych wyników można stwierdzić, że zakładane wskaźniki rezultatów zostały osiągnięte. Dzięki wykorzystaniu opracowanych prototypowych urządzeń, umożliwiających prowadzenie procesu w warunkach higienicznych, uzyskano następujące wskaźniki, w odniesieniu do produktu otrzymanego w warunkach standardowych:

- wysoki stopień czystości mikrobiologicznej – ponad 64% redukcja liczby pleśni i ogólnej liczby drobnoustrojów w produkcie (zakładany wskaźnik - o co najmniej 30%),
- drobnoustroje patogene: E. coli, Staphylococcus aureus, Listeria monocytogenes, Salmonella nieobecne w 25 g zmielonego suszu,
- zawartość β- i α-glukanów wyższa o ponad 60% (zakładany wskaźnik - o co najmniej 30%),

- aktywność antyoksydacyjna wyższa o co najmniej 25%, mieszcząca się w zakresie 25,39%-27%.

III. Opracowanie pilotażowej linii przemysłowej technologii wytwarzania produktów na bazie suszu z owocników soplówki jeżowatej.

Innowacyjna technologia higienicznego sposobu wytwarzania produktów na bazie suszu z soplówki jeżowatej, z wykorzystaniem prototypowej kapsułkarki wyposażonej w moduł do dezynfekcji (zdjęcie popniżej), zapewniła wysoką czystość mikrobiologiczną otrzymanych produktów.





Na wysoki stopień bezpieczeństwa mikrobiologicznego miała nie tylko prototypowa kapsułkarka, ale również zaprojektowany system oczyszczania powietrza i powierzchni produkcyjnych w przedsiębiorstwie z wykorzystaniem zjawisk fotokatalitycznej oksydacji i zimnej plazmy oraz wprowadzony system dezynfekcji hali uprawowej.