

Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego  
w Warszawie  
Instytut Nauk o Żywieniu Człowieka

mgr inż. Monika Maria Hanula

# Analiza wpływu związków bioaktywnych pozyskanych z jagód acai na kształtowanie cech jakościowych wybranych produktów spożywczych

Analysis of the influence of bioactive compounds extracted from  
acai berries on the formation of quality characteristics of selected  
food products

Praca doktorska  
Doctor thesis

Praca wykonana pod kierunkiem:

Promotora: **Dr hab. Andrzej Póltorak, profesor SGGW**  
Katedra Techniki i Projektowania Żywności  
Instytut Nauk o Żywieniu Człowieka  
Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie

Promotora pomocniczego: **Dr inż. Arkadiusz Szpicer**  
Katedra Techniki i Projektowania Żywności  
Instytut Nauk o Żywieniu Człowieka  
Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie

Warszawa 2022



*Podziękowania*

*Składam najserdeczniejsze podziękowania  
dla Promotora Pracy –  
Pana **Profesora dr hab. Andrzeja Półtoraka**  
za poświęcony czas, opiekę merytoryczną na każdym etapie,  
cenne uwagi, sugestie oraz ogromne zaangażowanie.*

*Szczególne podziękowania chciałabym złożyć  
moim Wspaniałym **Rodzicom**,  
Cudownym **Siostram, Dziadkom, Grzegorzowi** oraz **Maryni**  
za niezłomną wiarę i każdy promień słońca w czasie burzy,  
bez Was by się nie udało.*

***Bogu chwała!***



### Oświadczenie promotora pracy

Oświadczam, że niniejsza praca została przygotowana pod moim kierunkiem i stwierdzam, że spełnia ona warunki do przedstawienia jej w postępowaniu o nadanie stopnia naukowego.

Data ..... Podpis promotora pracy .....

### Oświadczenie autora pracy

Świadom odpowiedzialności prawnej oświadczam, że niniejsza praca doktorska została napisana przez mnie samodzielnie i nie zawiera treści uzyskanych w sposób niezgodny z obowiązującymi przepisami.

Oświadczam również, że przedstawiona praca nie była wcześniej przedmiotem procedur związanych z uzyskaniem stopnia naukowego w wyższej uczelni.

Oświadczam ponadto, że niniejsza wersja pracy jest identyczna z załączoną wersją elektroniczną.

Data ..... Podpis autora pracy .....



## Streszczenie

### **Analiza wpływu związków bioaktywnych pozyskanych z jagód acai na kształtowanie cech jakościowych wybranych produktów spożywczych**

Niniejsza praca doktorska została przygotowana na podstawie trzech spójnych tematycznie publikacji naukowych, dotyczących wykorzystania związków bioaktywnych, pochodzących z jagód acai, na kształtowanie wyróżników jakościowych w wybranych produktach spożywczych. W pierwszym etapie pracy poddano analizie wpływ ekstraktu z jagód acai w formie aktywnej powłoki wewnątrz opakowania na właściwości fizykochemiczne pieczarek *Agaricus bisporus* w trakcie procesu przechowywania. W drugim etapie zbadano wpływ hydrożelowej emulsji z kapsułkowanym ekstraktem z jagód acai oraz olejem krokoszowym na cechy fizykochemiczne burgeryów. W trzecim etapie sprawdzano wpływ liofilizowanej hydrożelowej emulsji z kapsułkowanym olejem z acai, jako zamiennik tłuszczu zwierzęcego, na cechy fizykochemiczne burgeryów wołowych. Związki bioaktywne pozyskane z jagód acai w znaczącym stopniu wpływały na przedłużenie trwałości produktów spożywczych (pieczarki dwuzarodnikowej oraz burgeryów wołowych). Ponadto zastosowanie oleju z acai przyczyniło się do poprawy profilu związków lotnych, a w konsekwencji wpłynęło na poprawę wskaźników żywieniowych burgerów. Zastosowanie liofilizowanej hydrożelowej emulsji na bazie mąki (gumy) konjak oraz alginianu sodu z kapsułkowanym olejem roślinnym stanowi dobrą matrycę do substytutów tłuszczów zwierzęcych tłuszczem roślinnym.

**Słowa kluczowe:** związki bioaktywne, procesy oksydacyjne, jagody acai, kapsułkowanie, burgery wołowe, *Agaricus bisporus*

## **Abstract**

### **Analysis of the influence of bioactive compounds extracted from açai berries on the formation of quality characteristics of selected food products**

This dissertation was prepared on the basis of three thematically consistent scientific publications on the use of bioactive compounds derived from açai berries in the formation of quality characteristics in selected food products. In the first stage, the influence of açai berry extract in the form of active coating inside the packaging on the physicochemical properties of *Agaricus bisporus* mushrooms during the storage process was analyzed. In the second stage, the effect of hydrogel emulsion with encapsulated açai berry extract and safflower oil on physicochemical characteristics of burgers was examined. In the third stage, the effect of freeze-dried hydrogel emulsion with encapsulated açai oil, as a replacement for animal fat, on the physicochemical characteristics of beefburgers was tested. The bioactive compounds extracted from açai berries significantly influenced the prolongation of shelf life of food products (double-spored mushroom and beef burgers. Moreover, the use of açai oil contributed to the improvement of the volatile compound profile and consequently improved the nutritional indices of the burgers. The use of freeze-dried hydrogel emulsion based on konjac flour (from the gum) and sodium alginate with encapsulated vegetable oil provides a good matrix for substituting animal fats with vegetable fat.

**keywords:** bioactive compounds, oxidative processes, açai berries, encapsulation, beef burglary, *Agaricus bisporus*



## Spis treści

|                                                                                                                                                                               |    |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Wykaz publikacji stanowiących pracę doktorską .....                                                                                                                           | 11 |
| Wstęp .....                                                                                                                                                                   | 13 |
| 1. Uzasadnienie podjęcia tematu pracy doktorskiej w oparciu o dane literaturowe .....                                                                                         | 15 |
| 2. Cel i zakres badań .....                                                                                                                                                   | 19 |
| 4. Materiał i metody badawcze .....                                                                                                                                           | 23 |
| <b>4.1. Materiał</b> .....                                                                                                                                                    | 23 |
| <b>4.2 Metody badawcze</b> .....                                                                                                                                              | 23 |
| Przygotowanie aktywnych opakowań.....                                                                                                                                         | 23 |
| Przygotowanie hydrożelowej emulsji z kapsułkowanym ekstraktem açaí i olejem<br>krokoszowym .....                                                                              | 24 |
| Przygotowanie liofilizowanej hydrożelowej emulsji z kapsułkowanym olejem z açaí .....                                                                                         | 24 |
| Pakowanie oraz przechowywanie <i>Agaricus bisporus</i> .....                                                                                                                  | 25 |
| Przygotowanie oraz pakowanie burgerów wołowych z udziałem hydrożelowej emulsji<br>z kapsułkowanym olejem z krokosza i ekstraktem z açaí .....                                 | 25 |
| Przygotowanie oraz pakowanie burgerów wołowych z udziałem liofilizowanej hydrożelowej<br>emulsji z kapsułkowanym olejem z açaí .....                                          | 26 |
| Ekstrakcja <i>Agaricus bisporus</i> .....                                                                                                                                     | 28 |
| Analiza związków fenolowych (TPC) .....                                                                                                                                       | 28 |
| Analiza zawartości kwasu L-askorbinowego .....                                                                                                                                | 28 |
| Analizy aktywności antyoksydacyjnej metodą ABTS, FRAP oraz DPPH .....                                                                                                         | 29 |
| Analiza profilu związków lotnych .....                                                                                                                                        | 29 |
| Analiza profilu kwasów tłuszczowych, wskaźnika trombogenności (TI), wskaźnika<br>aterogenności (AI) oraz analiza stosunku hipocholesterolemii/hipercholesterolemii (h/H) .... | 30 |
| Analiza oksydacji lipidów (TBARS) .....                                                                                                                                       | 30 |
| Zawartość malonyldialdehydu (MDA) .....                                                                                                                                       | 31 |
| Skład gazu wewnątrz opakowania .....                                                                                                                                          | 31 |
| Analiza reologii.....                                                                                                                                                         | 31 |
| Analiza metodą skaningowego mikroskopu elektronowego (SEM) .....                                                                                                              | 32 |
| Analiza metodą spektroskopii w podczerwieni z transformacją Fouriera (FTIR) .....                                                                                             | 32 |
| Analiza zmian masy przechowalniczej .....                                                                                                                                     | 32 |
| Analiza zmian masy po obróbce termicznej (wyciek termiczny) .....                                                                                                             | 32 |
| Pomiar pH .....                                                                                                                                                               | 33 |
| Analiza zdolności utrzymania wody własnej .....                                                                                                                               | 33 |
| Analiza tekstury .....                                                                                                                                                        | 33 |
| Analiza barwy .....                                                                                                                                                           | 34 |

|                                                                                                                                                           |           |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| Analiza statystyczna .....                                                                                                                                | 35        |
| 5. Syntetyczne omówienie wyników badań.....                                                                                                               | 36        |
| <b>5.1 Etap I - wpływ ekstraktu z acai w formie aktywnego opakowania na cechy fizykochemiczne <i>Agaricus bisporus</i> w trakcie przechowywania.....</b>  | <b>36</b> |
| <b>5.2 Etap II -hydrożelowa emulsja z kapsulkowanym ekstraktem z acai oraz olejem, jako nowy zamiennik tłuszczu zwierzęcego w burgerach wołowych.....</b> | <b>52</b> |
| <b>5.3 Etap III - jakość burgerów wołowych z udziałem liofilizowanego hydrożelu z kapsulkowanym olejem z acai .....</b>                                   | <b>72</b> |
| 7. Wnioski i stwierdzenia .....                                                                                                                           | 87        |
| 8. Bibliografia.....                                                                                                                                      | 89        |
| 8. Załączniki .....                                                                                                                                       | 101       |

## **Wykaz publikacji stanowiących pracę doktorską**

Niniejszą pracę doktorską stanowi cykl następujących publikacji:

### **Publikacja 1**

**Hanula, M.\***, Pogorzelska-Nowicka, E., Pogorzelski, G., Szpicer, A., Wojtasik-Kalinowska, I., Wierzbicka, A., & Półtorak, A. (2021). Active Packaging of Button Mushrooms with Zeolite and Açai Extract as an Innovative Method of Extending Its Shelf Life. *Agriculture*, 11(7), 653.

**MEiN: 100 pkt., IF: 2,925**

**Udział w publikacji: 55%**

### **Publikacja 2**

**Hanula, M.\***, Szpicer, A., Górską-Horczyczak, E., Khachatryan, G., Pogorzelski, G., Pogorzelska-Nowicka, E., Poltorak, A. (2022). Hydrogel Emulsion with Encapsulated Safflower Oil Enriched with Açai Extract as a Novel Fat Substitute in Beef Burgerys Subjected to Storage in Cold Conditions. *Molecules*, 27(8), 2397.

**MEiN: 140 pkt., IF: 4,412**

**Udział w publikacji: 60%**

### **Publikacja 3**

**Hanula, M.\***, Szpicer, A., Górską-Horczyczak, E., Khachatryan, G., Pogorzelska-Nowicka, E., Poltorak, A. (2022). Quality of Beef Burgerys Formulated with Fat Substitute in a Form of Freeze-Dried Hydrogel Enriched with Açai Oil. *Molecules*, 27(8), 2397.

**MEiN: 140 pkt., IF: 4,412**

**Udział w publikacji: 75%**

**Łączna liczba punktów wg listy MEiN \*\*: 380**

**Łączna wartość współczynnika IF\*\*\*: 11,749**

\* - autor korespondencyjny

\*\* - wg Komunikatu Ministra Edukacji i Nauki z dn. 09.02.2021r.

\*\*\* - zgodna z rokiem wydania



## Wstęp

W ostatnich latach znacznie wzrosła świadomość żywieniowa konsumentów (Lucas i wsp., 2018). Obecnie konsumenci coraz częściej poszukują zdrowej żywności, bogatej w związki bioaktywne. Jedną z największych grup związków bioaktywnych stanowią związki fenolowe, które syntetyzowane są na drodze szlaku pentozowo-fosforanowym, shikimatowym i fenylopropanoidowym oraz należą do grupy metabolitów wtórnych. Związki fenolowe regulują liczbę wolnych rodników powstających podczas przemian metabolicznych, hamują wzrost mikroorganizmów, przedłużają świeżość i akceptację produktów (Gantner i wsp., 2015, Guo i wsp., 2016). Dlatego producenci poszukują nowych naturalnych źródeł, które mogłyby być wykorzystane w produkcji żywności (Lucas i wsp., 2018, Oliveira i wsp., 2019).

Rośliny tropikalne cieszą się dużym zainteresowaniem naukowców ze względu na swój niezbadany potencjał. Jedną z takich roślin jest *Euterpe oleracea* (açaí), której popularność gwałtownie wzrosła w ostatnich latach. Açaí jest rośliną zaliczaną do rodziny *Arecaceae*, pochodzącą z Amazonii. Ciemnofioletowe jagody açaí znane są jako "superfood" ze względu na bogatą zawartość związków fitochemicznych, takich jak związki polifenolowe (kwasy fenolowe, kwas ferulowy, galusowy, glikozyd kwasu elagowego, wanilinowy), antocyjany (kuromanina, cyjanidy-3-glukozyd, keracyanina), flawonoidy (orientyna) oraz związki lotne (Yamaguchi i wsp., 2015, Lim i wsp., 2016, Earling i wsp., 2019). W jagodach açaí zidentyfikowano około 90 związków bioaktywnych: 31% stanowią flawonoidy, 23% związki fenolowe, 9% antocyjany, 11% lignoidy (Lucas i wsp., 2018). Dzięki zawartości wielu cennych związków bioaktywnych owoce açaí posiadają wysoką aktywność antyoksydacyjną wobec rodników hydroksylowych, peroksydowych i 2,2-difenylo-pikrylohydrazylowych (DPPH), a także hamuje utlenianie liposomów (Spada i wsp., 2009). Spośród amazońskich owoców, takich jak bacuri, abiu, cupuaçu i graviola, jagody açaí wykazują najwyższą aktywność wobec rodników kwasu 2,2-anizobis-3-etylobenzotiazolino-6-sulfonowego (ABTS) (Canuto i wsp., 2010). Açaí jest obecnie stosowany jako środek przeciwzapalny, zmniejszający uszkodzenia spowodowane stresem oksydacyjnym i działający przeciw chorobom neurodegeneracyjnym, a nawet nowotworom (Mamindla i wsp., 2016, Avila-Sosa i wsp., 2019). Dzięki obecności związków bioaktywnych w jagodach açaí, autorzy prac badawczych wskazują, również działanie takie jak hipocholesterolemiczne, ochrona wątroby przed stłuszczeniem, działanie

przeciwpłazmodium, działanie neuroprotektoryjne i działanie przeciwbiałaczkowe. Pozyskiwany olej z jagód acai pomimo wysokiej zawartości PUFA charakteryzuje się właściwościami antyproliferacyjnymi (gruczolakoraka jelita grubego), przeciwzapalnymi oraz nie wykazuje działania genotoksycznego (test kometowy, test mikrojądrowy). Olej ten posiada również związki polifenolowe takie jak kwas wanilinowy, kwas ferulowy, katechina czy kwas syringowy (Pacheco-Palencia i wsp., 2008). Zaobserwowano również obecność innych kwasów tłuszczowych, takich jak kwas oleinowy, linolenowy, eikozanowy, trans-elidowy i cis-11-wacenowy. Kwasy tłuszczowe odgrywają ważną rolę w zwalczaniu, bądź też opóźnianiu chorób takich jak: choroba wieńcowa, nadciśnienie tętnicze, restenoza, zespół Zellwegera, adrenoleukodystrofia, depresja, a także w procesach zapalnych oraz autoimmunologicznych (Jaramillo i wsp., 2019, Rosa i wsp., 2019, Hanula i wsp., 2020).

Jagody acai, ze względu na swoje unikalne i szerokie zastosowanie, zainteresowało zarówno konsumentów, jak i producentów żywności (Viana i wsp., 2017), co z kolei wpłynęło na wzrost popytu acai na rynku (Chriboga i wsp., 2020). Ze względu na tak szerokie spektrum zawartości związków bioaktywnych w jagodach acai, występuje możliwość ich wykorzystania w wielu sektorach przemysłu spożywczego, począwszy od aktywnych opakowań przedłużających trwałość produktu, po wzbogacanie żywności w bioaktywne związki.

# **1. Uzasadnienie podjęcia tematu pracy doktorskiej w oparciu o dane literaturowe**

Obserwowane rosnące zapotrzebowanie na żywność, wynika z ciągłego wzrostu liczby ludności przy ograniczonych zasobach naturalnych. Co więcej, jednym z największych problemów współczesnego świata jest problem marnowania żywności oraz związanej z tym wielkości strat. Według FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations) szacuje się, że jest to około 1,3 biliona ton rocznie (Barco i wsp., 2019, Karwowska i wsp., 2021). Negatywne skutki marnowania żywności są odczuwane w skali globalnej poprzez istotnie negatywne oddziaływanie na dostępność żywności w rejonach dotkniętych głodem oraz na silnie ujemny wpływ na środowisko naturalne. W rezultacie dotyczy przede wszystkim zwiększonej emisji gazów cieplarnianych, wyższego zużycia wód gruntowych i powierzchniowych. (Barco i wsp., 2019). Jednakże w obliczu rosnącej tendencji do zwiększania produkcji żywności nie można ignorować ilości marnowanej żywności. Dlatego tak ważne jest utrzymanie równowagi ekonomicznej i ekologicznej (Barrera i Hertel 2021, Filimonau i wsp., 2021).

W związku z powyższym, jedną z możliwości ograniczenia strat żywności jest wydłużenie okresu jej przydatności do spożycia poprzez zastosowanie substancji wydłużających termin przydatności do spożycia, konserwujących lub aktywnych opakowań. Ten rodzaj opakowań zyskał ostatnio dużą popularność i jest szeroko badany na całym świecie. Opakowania aktywne definiuje się jako posiadające "celowo wprowadzone składniki, które uwalniają lub absorbują substancje do lub z opakowanej żywności lub środowiska otaczającego żywność" (Rozporządzenie Komisji (WE) nr 450/2009). Zgodnie z tą definicją, składnikami wprowadzanymi do opakowań żywności mogą być określone związki, ekstrakty, mieszaniny lub komponenty (zwłaszcza nanomateriały lub nanostruktury), które wykazują unikalne właściwości (mały rozmiar, wysoki stosunek powierzchni do objętości, efekty kwantowe) (Omerović i wsp., 2021).

Związki bioaktywne lub ekstrakty roślinne stanowią integralną część opakowań aktywnych. W większości przypadków składniki używane do tworzenia opakowań aktywnych mają właściwości przeciwutleniające (wpływające na poprawę stabilności oksydacyjnej), bakteriobójcze i/lub grzybobójcze.

Produkty spożywcze w których w ostatnim czasie nastąpił szybki wzrost produkcyjny zaliczane są do grupy typu "fastfood". Trend ten związany jest z prowadzeniem wygodnego

stylu życia, brakiem wolnego czasu oraz z szybszym tempem życia. Z uwagi na fakt, iż rozwój wielu chorób jest uwarunkowany rodzajem diety (Domínguez i wsp., 2021), obserwuje się wzrost osób otyłych, u których zdiagnozowano obecność chorób współistniejących dietozależnych. Główny efekt otyłości dotyczy wystąpienia przewlekłego stanu zapalnego, zespołu metabolicznego (nadciśnienie tętnicze, dyslipidemia, insulinooporność), cukrzycy czy nowotworów (Kachur i wsp., 2017, Włodarczyk i wsp., 2019, Hanula i wsp., 2022).

Wzrost osób zmagających się z problemem otyłości jest głównie związany ze spożywaniem wysoko przetworzonej i wysokokalorycznej żywności. Produkty te zazwyczaj charakteryzują się wysoką zawartością tłuszczu, o niekorzystnym stosunku SFA do PUFAs oraz niską zawartością składników odżywczych (Rodríguez i wsp., 2016).

Dlatego też, zarówno konsumenci i światowe organizacje zdrowia (Światowa Organizacja Zdrowia, Europejski Urząd ds. Bezpieczeństwa Żywności), rekomendują zmiany w składzie i jakości produktów spożywczych w celu poprawy ich jakości. W związku z powyższym, szybko rosnącym trendem w technologii produkcyjnej jest głównie poszukiwanie rozwiązań mających na celu ograniczenie spożywania nasyconych kwasów tłuszczowych, przy jednoczesnym wzbogaceniu produktów w wielonienasycone kwasy tłuszczowe (zwłaszcza w n-3 oraz n-6, których ludzki organizm nie jest w stanie syntetyzować) (Rodríguez i wsp., 2016).

Oleje roślinne charakteryzują się niskim stosunkiem SFA: PUFA. Ponadto, zmniejszają zachorowalność na nowotwory czy wystąpienie zaburzeń neurologicznych oraz zapobiegają występowaniu chorób sercowo-naczyniowych, (Rodríguez i wsp., 2016). Jednakże inkorporacja płynnych olejów zawierających termolabilne związki jest problematyczna, dlatego też zaproponowano wiele strategii, jak na przykład kapsułkowanie oleju, immobilizacja w oleożelach czy też hydrożelach. Przedmiotem wielu badań naukowych była technika przekształcania płynnych olejów roślinnych w żel. Jednakże, technika ta ze względu na duży koszt produkcji oraz działanie organożelatorów w wysokich temperaturach, które wpływały destrukcyjnie na profil kwasów tłuszczowych stosowanych olejów stała się problematyczna do wykorzystania w przemyśle spożywczym. W przeciwieństwie do oleożeli, hydrożel emulsyjny jest tanią i prostą techniką oraz nie wymaga stosowania wysokich temperatur. Fakt ten jest kluczowy w kontekście wykorzystywania związków wrażliwych termicznie, bądź też bioaktywnych przed degradacją oksydacyjną. Co więcej hydrożele emulsyjne zawierają  $\leq 50\%$  oleju, a więc wykorzystanie ich skutkuje nie tylko poprawą profilu kwasów tłuszczowych, ale również



efektywnym obniżeniem zawartości tłuszczu całkowitego i kaloryczności w modyfikowanych produktach mięsnych. Metoda ta pozwala na wprowadzenie do matrycy hydrożelowej, zarówno hydrofilowych jak i hydrofobowych składników funkcjonalnych (Domínguez i wsp., 2021). Do tworzenia hydrożeli emulsyjnych stosowanych jako zamienniki tłuszczu, badacze wykorzystywali różne emulgatory, biokompozyty oraz polisacharydy. Wykorzystanie do tego celu mąki konjak, która uważana jest za składnik niskokaloryczny, wydaje się obiecującym biokompozytem zwłaszcza, że z powodzeniem została wykorzystana w suchych kielbasach jako zamiennik tłuszczu wieprzowego (Jiménez-Colmenero i wsp., 2013), salcichón wzbogacone w n-3 (Lorenzo i wsp., 2016) oraz w pasztetach z wątroby wieprzowej (Delgado-Pando i wsp., 2012).

Trendy w produkcji żywności wpływają na projektowanie produktów spożywczych nie tylko pod względem obniżenia zawartości tłuszczu w produktach mięsnych, ale również wzbogacenie w dodatkowe właściwości prozdrowotne, jak na przykład związki bioaktywne czy też błonnik pokarmowy. Jednym z takich dodatków są ekstrakty/związki bioaktywne pochodzące z jagód acai. *Euterpe oleraceae* (acai), które zyskują coraz większą popularność ze względu na aktywność antyoksydacyjną, antylipidemiczną, przeciwzapalną czy antyproliferacyjną i zaliczane są do "superfoods" (Melo i wsp., 2016, Hanula i wsp., 2020). Natomiast błonnik pokarmowy jest jednym z najbardziej rozpowszechnionych składników funkcjonalnych w produktach spożywczych. Udział błonnika w produktach mięsnych może być alternatywą dla zwiększenia dziennego spożycia włókien pokarmowych, których spożycie zalecane jest > 25g/dzień. Ponadto, badania kliniczne i epidemiologiczne wykazały pozytywny wpływ błonnika na zmniejszenie hiperlipidemii, obniżenie poziomu cholesterolu całkowitego, zmniejszenie ryzyka rozwoju chorób nowotworowych, poprawę tolerancji glukozy oraz stanu zdrowia przewodu pokarmowego, jak również zwiększenie uczucia sytości (Hautrive i wsp., 2018). Kolejnym składnikiem o właściwościach prozdrowotnych jest mąka z siemienia lnianego, zawiera ona szereg związków funkcjonalnych. Siemię lniane charakteryzuje się korzystnym profilem kwasów tłuszczowych (wielonienasycone kwasy tłuszczowe) oraz przede wszystkim jest bogatym źródłem błonnika pokarmowego, białka oraz antyoksydantów (lignany). Co więcej, siemię lniane nie zawiera gliadyn i glutenin (składowych glutenu), a więc może być stosowany do wzbogacenia żywności dla osób z celiakią (Karakurt i wsp., 2022).

Jednakże hydrożel ze względu na wysoką zawartość wody ma ograniczony czas wykorzystania związany ze stabilnością hydrożelowego układu. Liofilizacja hydrożelowej emulsji wydaje się obiecującym rozwiązaniem, ponieważ wydłuża trwałość hydrożelowej

emulsji bez negatywnego wpływu na bioaktywne związki (Rezvankhah i wsp., 2019, Domínguez i wsp., 2021).

Analizując powyższe dane, przemysł spożywczy napotyka obecnie na trudności w obniżaniu zawartości tłuszczu w burgerach. Zmniejszona zawartość tłuszczu w produktach mięsnych może mieć szereg negatywnych skutków, zarówno dla jakości sensorycznej jak i technologicznej, takich jak zwiększenie strat podczas obróbki termicznej, zmiana tekstury, wpływ na stabilność emulsji oraz zmniejszenie soczystości i smaku. Dlatego też, opracowanie zamiennika tłuszczu zwierzęcego poprawiającego wartość prozdrowotną burgerów, zachowując wartość technologiczną jest ważne ale zarazem trudne. Opracowanie aktywnych opakowań wydłużających istotnie termin przydatność do spożycia, przyczyni się do zmniejszenia ilości marnowanej żywności, co w konsekwencji wpłynie pozytywnie na ochronę środowiska oraz na zwiększenie dostępności żywności. Mając na uwadze szereg różnorodnych związków bioaktywnych pochodzących z jagód acai, zbadanie możliwości ich wykorzystania w różnych formach oraz funkcji przyczyni się do pozyskania nowej wiedzy o możliwych innych zastosowaniach jagód acai w przemyśle spożywczym.

## 2. Cel i zakres badań

**Celem pracy** była analiza wpływu związków bioaktywnych pozyskanych z jagód acai (*Euterpe oleraceae*) na kształtowanie cech jakościowych wybranych produktów spożywczych oraz opracowanie metody zabezpieczania związków bioaktywnych pozyskanych z acai przed degradacją właściwości prozdrowotnych w trakcie procesów technologicznych.

### **Zakres badań obejmował:**

- analizę literatury w zakresie stosowanych substancji bioaktywnych, jako surowców podwyższających wartość prozdrowotną jak również zabezpieczających produkty spożywcze przed zmianami oksydacyjnymi oraz analizę możliwości zabezpieczenia związków bioaktywnych przed negatywnym wpływem procesów termicznych
- dobór metod zabezpieczających związki bioaktywne oraz ich optymalizację, opracowanie metodyk badawczych, wykonanie pomiarów właściwości fizykochemicznych, przechowalniczych oraz akceptacji konsumenckiej produktów spożywczych,
- przeprowadzenie badań, analiz oraz omówienie uzyskanych wyników w zaplanowanych trzech etapach prac badawczych.

### **Szczegółowy cel i zakres badań**

#### **Etap I**

#### **Aktywne opakowanie na bazie ekstraktu z acai, jako innowacyjna metoda przedłużenia trwałości *Agaricus bisporus***

Celem etapu I, było sprawdzenie wpływu ekstraktu z jagód acai oraz zeolitu w formie aktywnego opakowania na cechy fizykochemiczne pieczarki dwuzarodnikowej (*Agaricus bisporus*) w trakcie przechowywania.

Zakres badań obejmował analizy:

- całkowita zawartość związków fenolowych,
- zawartość witaminy C,
- zdolność antyoksydacyjna DPPH oraz FRAP,
- zawartość dialdehydu malonowego,
- analiza profilu związków lotnych,

- barwy zewnętrznej kapelusza ( $\Delta E$ , BI,  $L^*$ ),
- brązowienie wewnątrz kapelusza,
- przechowalnicze zmiany masy,
- analiza tekstury (twardość).

Analizy przeprowadzono w 0, 7, 14, 21 oraz 28 dniu przechowywania.

## **Etap II**

### **Hydrożelowa emulsja z kapsułkowanym ekstraktem z acai oraz olejem z krokosza, jako zamiennik tłuszczu zwierzęcego w burgerach wołowych**

Celem etapu II było opracowanie i optymalizacja składu hydrożelowej emulsji z kapsułkowanym ekstraktem z jagód acai oraz olejem z krokosza na bazie mąki konjak (gumy), alginianu sodu i mąki lnianej oraz zbadanie wpływu ekstraktu z jagód acai na procesy biochemiczne i fizyczne zachodzące w burgerach wołowych.

Zakres badań obejmował analizy:

- profilu kwasów tłuszczowych,
- oksydacji lipidów TBARS,
- indeksu TI, AI, h/H,
- profilu związków lotnych
- całkowitej zawartość fenoli,
- aktywności antyoksydacyjnej ABTS i FRAP,
- utrzymania wody własnej,
- barwy,
- pH,
- przechowalnicze oraz termiczne zmiany masy,
- parametrów reologicznych,
- parametrów tekstury,
- hydrożelowej emulsji za pomocą skaningowego mikroskopu elektronowego (SEM),
- hydrożelowej emulsji metodą spektroskopii w podczerwieni z transformacją Fouriera (FTIR).

Analizy przeprowadzono w 0, 4 oraz 8 dniu przechowywania zarówno prób surowych oraz po obróbce termicznej.

### **Etap III**

#### **Jakość burgerów wołowych z udziałem liofilizowanego hydrożelu z kapsułkowanym olejem z acai**

Celem szczegółowym etapu III była optymalizacja reformulacji burgerów pod kątem zamiennika tłuszczu zwierzęcego tłuszczem roślinnym (liofilizowany hydrożel emulsyjny z kapsułkowanym olejem z acai) charakteryzującym się wysoką zawartością PUFA. Analizowano wpływ udziału zamiennika tłuszczu na cechy fizykochemiczne burgerów wołowych, w trakcie przechowania jak również po obróbce termicznej.

Zakres badań obejmował analizy:

- profilu kwasów tłuszczowych,
- oksydacji lipidów TBARS,
- indeksu TI, AI, h/H,
- profilu związków lotnych,
- testu podwójnego ściskania TPA,
- barwy,
- pH,
- zmiany masy po obróbce termicznej,
- liofilizowanej hydrożelowej emulsji z kapsułkowanym olejem z acai za pomocą skaningowego mikroskopu elektronowego (SEM).

Analizy przeprowadzono w 0 oraz w 7 dniu przechowywania zarówno prób surowych oraz po obróbce termicznej.

### 3. Hipotezy badawcze

#### Etap I:

- H1. Aktywne opakowanie z udziałem 3% ekstraktu z jagód acai (*Euterpe olerace*) spowalnia niekorzystne procesy brązowienia w trakcie przechowywania *Agaricus bisporus*
- H2. Aktywne opakowanie z udziałem 3% ekstraktu z jagód acai (*Euterpe olerace*) spowalnia niekorzystne procesy związane ze zmianą tekstury w trakcie przechowywania *Agaricus bisporus*

#### Etap II:

- H3. Udział ekstraktu z acai w kapsułkach polisacharydowej zmniejsza szybkość procesów oksydacyjnych zachodzące w burgerach wołowych w trakcie przechowywania w warunkach chłodniczych

#### Etap III:

- H4. Udział liofilizowanej hydrożelowej emulsji z kapsułkowanym olejem z jagód acai (*Euterpe olerace*) w burgerach wołowych spowalnia niekorzystne zmiany oksydacyjne tłuszczu oraz wpływa na poprawę profilu kwasów tłuszczowych

## 4. Materiał i metody badawcze

### 4.1. Materiał

W etapie I materiał badawczy stanowiły pieczarki (*Agaricus bisporus*), pozyskane z pieczarkarni w Wierzbnie, Polska. Zebrane owocniki charakteryzowały się równomiernym wzrostem i powierzchnią kapelusza o  $\varnothing$  3-5 cm. Zebrane pieczarki schłodzone w temp. 4°C oraz tego samego dnia przewieziono do laboratorium. W celu przeprowadzenia doświadczenia w laboratorium Katedry Techniki i Projektowania Żywności (KTiPŻ) przygotowano aktywne opakowania składające się z tacek PET z powłoką zawierającą ekstrakt z jagód acai (liofilizowane jagody, superfoods, PL-EKO-07) oraz zeolitu (klinoptylolit).

W etapie II i etapie III materiał badawczy stanowiły burgery wołowe z mięśni karku oraz łoju wołowego, zakupionych z Zakładów Mięsnych Wierzejki Spółka jawna, Polska. W celu przeprowadzenia doświadczenia etapu II przygotowano hydrożelową emulsję na bazie mąki koniak (green essence), alginianu sodu (agnex 1999) oraz mąki lnianej (LenVitol, Oleofarm) z kapsułkowanym olejem krokoszowym (Złota Tłocznia) oraz ekstraktem z jagód acai (liofilizowane jagody, superfoods, PL-EKO-07). W celu przeprowadzenia doświadczenia etapu II przygotowano hydrożelową emulsję na bazie mąki koniak (green essence) oraz alginianu sodu (agnex 1999) z kapsułkowanym olejem z acai, który został poddany procesowi liofilizacji.

### 4.2 Metody badawcze

#### Przygotowanie aktywnych opakowań

Aktywne opakowania wykonano metodą powlekania opakowań odlewem rozpuszczalnikowym, proces przebiegał następująco: w pierwszej kolejności przygotowano ekstrakt z jagód acai. W tym celu odważono 2 g liofilizowanych jagód acai, a następnie homogenizowano w 50 mL 1:1 (v/v) etanol/woda przez 2 min (13 000 obr/min). Następnie przeprowadzono ekstrakcję z wykorzystaniem ultradźwięków w temperaturze 45°C przez 5 min. Ekstrakt odwirowano, a supernatant przechowywano w temperaturze 4°C do czasu przygotowania powłoki. Rozpuszczono 6 g żelatyny typu A o 180 bloomach i 12 g gliceryny

w 100 mL wody destylowanej, polimeryzację przeprowadzono w temp. 57°C przez 30 min do uzyskania klarownego roztworu. Po schłodzeniu roztworu do temperatury 40°C dodano 3 g ekstraktu z acai dla powłoki z ekstraktem (FE), 1 g zeolitu dla powłoki z zeolitem (FZ), 1,5 g ekstraktu z acai + 0,5 g zeolitu dla powłoki z zeolitem i ekstraktem (FEZ). Każdy wariant powłoki mieszano magnetycznie przez 15 min w temp. 40°C. Następnie 50 mL przygotowanego roztworu rozlano na plastikową tacę PET ( $9 \times 14 \text{ cm}^2$ ) i suszono przez 12 h, w temperaturze 45°C.

#### Przygotowanie hydrożelowej emulsji z kapsułkowanym ekstraktem acai i olejem krokoszowym

Przygotowanie hydrożelowej emulsji z kapsułkowanym olejem przebiegało zgodnie z procedurą. Żelowanie alginianu sodu oraz mąki konjac przeprowadzono poprzez rozpuszczenie odpowiednio 2 g oraz 0,86 g w 100 mL H<sub>2</sub>O przez mieszanie w temp. 60°C do uzyskania klarownego żelu. Następnie przygotowywano emulsję poprzez sonikację (Elma Schmidbauer GmbH, Elmasonic S 180 H, Germany) mieszaniny oleju z krokosza oraz wody w stosunku 2:1. Następnie przeprowadzono homogenizację (IKA T18 digital, Ultra Turrax, Germany). Po uzyskaniu żelu z kapsułkowanym olejem dodano 5 g/100 g żelu bazowego mąki lnianej. Przygotowano hydrożel z kapsułkowanym olejem w stężeniach 0, 29, 33, 38, 42, 45 oraz 48%. Uzyskane w ten sposób biokompozyty posłużyły do dalszych badań: analizy obrazu SEM (scanning electron microscope), analizy spektroskopii FTIR (fourier transform infrared spectroscopy), pomiaru tekstury oraz reologii.

#### Przygotowanie liofilizowanej hydrożelowej emulsji z kapsułkowanym olejem z acai

Liofilizowana hydrożelowa emulsja na bazie mąki konjac oraz alginianu sodu z kapsułkowanym olejem z acai oraz udziałem mąki lnianej została użyta jako zamiennik tłuszczu zwierzęcego. Przygotowanie hydrożelowej emulsji przeprowadzono wg opracowanych wcześniej badań własnych (Hanula i wsp., 2022). Żelowanie alginianu sodu oraz mąki konjac przeprowadzono poprzez rozpuszczenie odpowiednio 2 g oraz 0,86 g w 100 mL H<sub>2</sub>O i mieszano w temp. 60°C do momentu uzyskania klarownego roztworu. Przygotowaną emulsję (2:1 olej:H<sub>2</sub>O) homogenizowano w otrzymanym biokompozycie. Następnie dodano odtłuszczonej mąkę lnianą w celu zwiększenia kruchości liofilizatu (5 g



mąki lnianej/95 g hydrożelowej emulsji). Uzyskany hydrożel z kapsułkowanym olejem (31%) został poddany procesowi liofilizacji.

#### Pakowanie oraz przechowywanie *Agaricus bisporu*

Pieczarki podzielono na 5 grup. Trzy grupy zapakowano w opakowania aktywne FE, FZ, FEZ. Jedną grupę kontrolną zapakowano w opakowania PET bez aktywnej powłoki (C). Grupy FE, FZ, FEZ i C pakowano w mikroperforowaną folię PSF w zmodyfikowanej atmosferze (5% CO<sub>2</sub>, 80% O<sub>2</sub>, 15% N<sub>2</sub>) przy użyciu Sealpac Traysealer M3 (Oldenburg, Niemcy). Mikroperforowana folia charakteryzowała się następującymi parametrami: średnica perforacji: 143 µm, grubość: 25 µm, przepuszczalność: O<sub>2</sub> 7000 cm<sup>3</sup> dzień<sup>-1</sup> 0,1 MPa<sup>-1</sup>. Ostatnią grupę badawczą stanowiły pieczarki zapakowane w PET i folię plastyfikowaną (PVC). Zapakowane grzyby przechowywano w warunkach chłodniczych w temperaturze  $4 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$  przez 28 dni. Analizy chemiczne (całkowita zawartość fenoli, zawartość witaminy C, zawartość MDA, analiza zdolności antyoksydacyjnej: FRAP, DPPH, analiza związków lotnych) oraz fizyczne (skład gazu wewnątrz opakowania, przechowalnicza zmiana masy, analiza barwy, analiza tekstury) przeprowadzono w 0, 7, 14, 21 oraz w 28 dniu przechowywania. Doświadczenie zostało założone w 3 powtórzeniach biologicznych. Każdą analizę przeprowadzono w 3 powtórzeniach.

#### Przygotowanie oraz pakowanie burgerów wołowych z udziałem hydrożelowej emulsji z kapsułkowanym olejem z krokosza i ekstraktem z acai

Zmielono oddzielnie wołowinę i tłuszcz wołowy przy użyciu maszyny do rozdrabniania mięsa z sitem o średnicach otworów Ø 8 mm (PI-22-TU-T, Edesa, Hiszpania). Tab. 1 przedstawia skład burgeryów z substytutem tłuszczu zwierzęcego w formie hydrożelowej emulsji z kapsułkowanym olejem bez/z udziałem ekstraktu z acai oraz mąką lnianą (wariant G, GT, GE, GET). Wariant kontrolny stanowił burgery z łożem wołowym (CT) jako konwencjonalnym źródłem tłuszczu w produktach mięsnych oraz burgery z olejem (CO) jako alternatywnym źródłem tłuszczu. Wszystkie składniki, według określonych proporcji, połączono i uformowano burgery ( $120 \text{ g} \pm 1$ ) o średnicy 10 cm.

Tab. 1. Skład burgerów wołowych z udziałem hydrożelowej emulsji z kapsułkowanym ekstraktem z jagód açai i olejem krokoszowym. Podane proporcje przedstawiają składowe burgerów o masie 120 g. Do każdej reformulacji dodano 1,4% soli oraz 0,35% pieprzu.

| Wariant | Skład                                                              |                    |              |            |
|---------|--------------------------------------------------------------------|--------------------|--------------|------------|
|         | Rodzaj zastosowanego tłuszczu                                      | Mąka lniana<br>[g] | Mięso<br>[g] | Sól<br>[g] |
| G       | 9,5g hydrożel z kapsułkowanym olejem                               | 10,5               | 100          | 1,7        |
| GT      | 9,5g hydrożel z kapsułkowanym olejem + 5 g łój                     | 10,5               | 95           | 1,7        |
| GE      | 9,5g hydrożel z kapsułkowanym olejem z ekstraktem z açai           | 10,5               | 100          | 1,7        |
| GET     | 9,5g hydrożel z kapsułkowanym olejem z ekstraktem z açai + 5 g łój | 10,5               | 95           | 1,7        |
| CT      | 20g łój                                                            | -                  | 100          | 1,7        |
| CO      | 8g olej                                                            | -                  | 112          | 1,7        |

Następnie uformowane burgery umieszczono na tackach z politeraftalan etylenu (PET) o wymiarach 137x187x50 mm z podkładką chłonna (chłonność: 1700 ml/m<sup>2</sup>). Tacki z burgerami były pakowane w modyfikowanej atmosferze (80 O<sub>2</sub>, 20% CO<sub>2</sub>), zamykane (zgrzewane) folią górną o grubości 35 µm PSF (PSF35ZAC, PolTechPack Sp. z o.o.). Następnie burgery przechowywano przez 0, 4 oraz 8 dni w temp. 4°C ± 1 °C. Analizy barwy, pH, profilu kwasów tłuszczowych, TBARS, przechowalnicza zmiana masy, analizę związków lotnych zostały przeprowadzone na burgerach surowych. Po określonym czasie przechowywania (0, 4 oraz 8 dni) burgery grillowano w grillu elektrycznym (model S- 165 K, Silex, Niemcy) rozgrzanym do temperatury 190°C (płyta dolna) oraz 210°C (płyta górna) do osiągnięcia 75°C w geometrycznym środku każdego burgerów, a następnie schłodzono do temp. 25°C. Tak przygotowane burgery posłużyły do przeprowadzenia analizy barwy, profilu kwasów tłuszczowych, termiczna zmiana masy oraz testu TPA. Doświadczenie zostało założone w 3 powtórzeniach biologicznych.

Przygotowanie oraz pakowanie burgerów wołowych z udziałem liofilizowanej hydrożelowej emulsji z kapsułkowanym olejem z açai

Burgery zostały przygotowane wg reformulacji przedstawionej w tabeli 2. Mięso wołowe bez nadmiaru tkanki łącznej oraz tłuszczowej zostało rozdrobnione. Następnie zmielono mięso oraz łój wołowy (osobno) przy użyciu maszyny do rozdrobniania mięsa z sitem o średnicach otworów Ø 8 mm (PI-22-TU-T, Edesa, Hiszpania). Wariant kontrolny stanowiły burgery (CO) z udziałem łożu wołowego. Wszystkie podane składniki

reformulacji zostały wymieszane wg określonych proporcji (tab. 2) i uformowano burgery  $120 \pm 1$  g,  $\varnothing$  10cm.

Tab. 2. Skład burgerów wołowych z udziałem liofilizowanej hydrożelowej emulsji z kapsułkowanym olejem z acai. Podane proporcje przedstawiają składowe burgerów o masie 120 g. Do każdej reformulacji dodano 1,4% soli i 0,35% pieprzu.

| Wariant | Udział zamiennika tłuszczu [%] | Mięso wołowe [g] | Łój wołowy [g] | Liofilizowana hydrożelowa emulsja z kapsułkowanym olejem [g] | Czas grillowania [min.] |
|---------|--------------------------------|------------------|----------------|--------------------------------------------------------------|-------------------------|
| CO      | 0%                             | 96               | 24             | 0                                                            | 5                       |
| S-25%   | 25%                            | 96               | 18             | 6                                                            | 4                       |
| S-50%   | 50%                            | 96               | 12             | 12                                                           | 3                       |
| S-75%   | 75%                            | 96               | 6              | 18                                                           | 3                       |
| S-100%  | 100%                           | 96               | 0              | 24                                                           | 3                       |

CO - kontrola (0% tłuszczu zastępczego), S-25% - 25% substytutu tłuszczu, S-50% - 50% substytutu tłuszczu, S-75% - 75% substytutu tłuszczu, S-100% - 100% substytutu tłuszczu.

Następnie uformowane burgery umieszczono na tackach (politeraftalan etylenu-PET) o wymiarach  $137 \times 187 \times 50$  mm. Burgery zostały zapakowane w modyfikowanej atmosfery (80 O<sub>2</sub>, 20% CO<sub>2</sub>), przy użyciu folii o grubości 35  $\mu$ m PSF (PSF35ZAC, PolTechPack Sp. Z o.o.). Zapakowane burgery przechowywano przez 7 dni w temp.  $4 \pm 1^\circ\text{C}$ . Burgery surowe analizowano w 0 oraz w 7 dniu przechowywania, przeprowadzono następujące analizy: barwa, pH, analiza profilu kwasów tłuszczowych, profil związków lotnych oraz analiza oksydacji tłuszczu TBARS. Burgery w określonym dniu analizy zostały grillowane w grillu elektrycznym (model S-165 K, Silex, Niemcy) rozgrzanym do temperatury  $210^\circ\text{C}$  (płyta górna) oraz  $190^\circ\text{C}$  płyta dolna, aż do osiągnięcia temperatury  $75^\circ\text{C}$  w geometrycznym środku każdego burgera. Następnie schłodzono burgery do temp.  $25^\circ\text{C}$ . Burgery grillowane stanowiły materiał do przeprowadzenia następujących analiz: barwa, wyciek termiczny, analiza tekstury (TPA), analiza profilu związków lotnych, analiza profilu kwasów tłuszczowych oraz analiza sensoryczna w dniu 0 oraz w 7 dniu przechowywania.

## Ekstrakcja *Agaricus bisporus*

*Agaricus bisporus* w każdym dniu badawczym krojono i suszono w piecu konwekcyjnym (Seria FP Classic. Line, Model 115, BINDER) przez 16 godzin w temp. 45°C. Następnie materiał został zmielony. W dalszej kolejności odważono 1 g, który został zhomogenizowany w 9 mL metanolu. Następnie ekstrakt poddano działaniu ultradźwięków przez 30 min w temp. 35°C. Ekstrakt wytrząsano przez 15 min i odwirowywano przez 10 min przy 9000 obr/min w 4°C. Uzyskane próbki przechowywano w temperaturze 4°C do czasu przeprowadzenia analizy TPC, DPPH, FRAP.

## Analiza związków fenolowych (TPC)

Analizę zawartości związków fenolowych przeprowadzono w oparciu o metodę Singletona i Rossiego (1965) z niewielkimi modyfikacjami w zależności od badanego materiału. Do ekstraktu dodano odczynnik Folina-Ciocalteu'a, 7% Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> oraz H<sub>2</sub>O. Otrzymany roztwór został wymieszany i inkubowany w temp. ~ 23°C, przez 30 min. Pomiar absorbancji przeprowadzono z wykorzystaniem spektrofotometru UV-VIS przy długości fali 765 nm. TPC wyrażono, jako mg równoważnika kwasu galusowego na gram suchej masy (mg/g s.m.). Analizę prowadzono w celu realizacji badań zaplanowanych w etapie I oraz II.

## Analiza zawartości kwasu L-askorbinowego

Analizę zawartości kwasu L-askorbinowego przeprowadzono zgodnie z metodą Balogha i Szarka (2016) z niewielkimi modyfikacjami. 1g suszonych pieczarek dwuzarodnikowych zhomogenizowano w 10 ml 5% kwasu octowego przez 2 min. (13 000 obr/min). Następnie mieszaninę wytrząsano przez 30 min., ekstrakt odwirowywano przez 10 min. (9000 obr/min. w 4°C) i przefiltrowano. Otrzymany ekstrakt wymieszano z 1% 2,2'-bipirydylem, 0,1% FeCl<sub>3</sub> i 85% kwasem ortofosforowym, po 5 min. inkubacji w ciemności przeprowadzono pomiar absorbancji przy długości fali 525 nm za pomocą spektrofotometru UV-VIS w stosunku do próby ślepej. Zawartość witaminy C wyrażono, jako kwas askorbinowy mg/g s.m. Pomiar przeprowadzono w trzech powtórzeniach w każdym dniu analizy. Analizę prowadzono w celu realizacji badań zaplanowanych w etapie I.

## Analizy aktywności antyoksydacyjnej metodą ABTS, FRAP oraz DPPH

Analizy ABTS, DPPH i FRAP przeprowadzono zgodnie z metodami opisanymi przez Belwał i wsp., (2016) z niewielkimi modyfikacjami.

Analizę ABTS przeprowadzono mieszając 0,1 mL ekstraktu z 2,9 mL ABTS (sól dwuamonowa kwasu 2,2'-azino-bis(3-etylobenzotiazolino-6-sulfonowego)) i inkubując przez 30 min.

Analiza FRAP polegała na połączeniu 2,9 mL roztworu FRAP (20 mM chlorku żelazowego w H<sub>2</sub>O, 10 mM 2,4,6-tri(2-pirydylo)-s-triazyny w 40 mM kwasie solnym i 300 mM buforze octanu sodu w stosunku 1:1:10) z 0,1 mL ekstraktu i dalszej inkubacji w ciemności przez 15 min.

Analizę DPPH przeprowadzono przez dodanie 50 µL badanego ekstraktu do 2,95 mL roztworu DPPH (2,2-difenylo-1-pikrylohydrazylowego) oraz inkubacji przez 30 min.

Otrzymany kompleks barwny mierzono odpowiednio przy długości fali 520 nm (ABTS, DPPH) i 593 nm (FRAP), używając spektrofotometru UV-Vis. Wyniki wyrażono w mg kwasu L-askorbinowego/g s.m. Analizę prowadzono w celu realizacji badań zaplanowanych w etapie I oraz II.

## Analiza profilu związków lotnych

Analizę profilu związków lotnych przeprowadzono przy użyciu urządzenia Heracles II e-nose (Alpha MOS Co., Tuluza, Francja), opartego na ultraszybkim chromatografie gazowym z detektorem płomieniowo-jonizacyjnym i aplikacją zliczającą indeksy retencji, wykorzystującą bibliotekę AroChemBase (oprogramowanie AlphaSoft, Alpha MOS Co., Tuluza, Francja). Chromatograf gazowy wyposażony był w dwie kolumny kapilarne o różnej polarności, tj. DB-5 i DB-1701, o wymiarach 10 m × 0,18 mm ID x 0,4 µm grubości warstwy. Analizę przeprowadzono zgodnie z metodyką podaną przez Górską-Horczyzak i wsp., (2020). Parametry analizy ustawiono następująco: detektory płomieniowo-jonizacyjne (FID) na 270°C, iniektor na 200°C, program temperaturowy pieca na 60°C przez 2 s, rampa 3°C s<sup>-1</sup> do 270 °C oraz izoterma na 270 °C przez 30 s. Do wykrywania związków lotnych w analizowanej próbce zastosowano indeksy retencji Kovatsa. Kalibrację przeprowadzono na standardowej mieszaninie alkanów C6-C16 (Restek, ANCHEM Plus, Warszawa, Polska). Analizę prowadzono w celu realizacji badań zaplanowanych w etapie I, II oraz III.

Analiza profilu kwasów tłuszczowych, wskaźnika trombogenności (TI), wskaźnika aterogenności (AI) oraz analiza stosunku hipocholesterolemii/hipercholesterolemii (h/H)

Analizę profilu kwasów tłuszczowych przeprowadzono dla łożu wołowego, oleju z acai, burgerów surowych oraz grillowanych. Lipidy poddano metylacji według metody Wojtasik-Kalinowskiej i wsp., (2017) oraz Heck i wsp., (2017) z niewielką modyfikacją. Otrzymaną mieszaninę estrów metylowych kwasów tłuszczowych analizowano za pomocą chromatografu gazowego (Shimadzu GC-2010) z detektorem płomieniowo-jonizacyjnym (FID). Chromatograf był wyposażony w kolumnę Zebron ZB-FAME (GC Cap. Column, 60m x 0,25mm x 0,2um, Ea). Początkowa temperatura kolumny wynosiła 100°C, która była utrzymywana przez 3 min, następnie wzrastała stopniowo do temp. 240°C z prędkością 2,5°C/min. Temperaturę końcową utrzymywano przez 10 min. Do identyfikacji FAME, jako wzorzec zastosowano FAME Mix-37 (Supelco, TraceCERT®, EC:200-838-9, SKU: CRM47885). Uzyskane wyniki przedstawiono, jako profil kwasów tłuszczowych. Ponadto, określono wskaźniki zdrowotności takie jak trombogenność (TI) i aterogenność (AI) wg Ulbricht i Southgate (1991) oraz stosunek hipocholesterolemii do hipercholesterolemii (h/H) obliczonej według Hanula i wsp., (2022). Analizę prowadzono w celu realizacji badań zaplanowanych w etapie I, II oraz III.

$$TI = \frac{C14:0 + C16:0 + 18:0}{(0,5 \times \Sigma MUFA) + (0,5 \times \Sigma n - 6) + (3 \times \Sigma n - 3) + \left(\frac{\Sigma n - 3}{\Sigma n - 6}\right)}$$

$$AI = \frac{C12:0 + (4 \times C14:0) + 16:0}{(\Sigma PUFA n - 3) + (\Sigma PUFA n - 6) + (\Sigma MUFA)}$$

$$\frac{h}{H} = \frac{C18:1n9 + \Sigma PUFA}{C14:0 + C16:0}$$

gdzie:

SFA - nasycone kwasy tłuszczowe;

MUFA - jednonienasycone kwasy tłuszczowe;

PUFA - wielonienasycone kwasy tłuszczowe;

n - 6 - omega-6;

n - 3 - omega-3

#### Analiza oksydacji lipidów (TBARS)

Analizę oksydacji lipidów oceniano na podstawie zmian TBARS i przeprowadzono zgodnie z procedurą opisaną przez Brodowska i wsp., (2016). Do przygotowania krzywej wzorcowej użyto 1,1,3,3-tetrametoksypropanu. Absorbancję powstałego barwnego

kompleksu mierzono za pomocą spektrofotometru UV-Vis (UV-1800, Shimadzu Corp., 115 VAC, Tokio, Japonia) przy długości fali 532 nm. Wartości TBARS przedstawiono w mg dialdehydu malonowego (MDA) na 100 g próbki. Analizę prowadzono w celu realizacji badań zaplanowanych w etapie II oraz III.

#### Zawartość malonyldialdehydu (MDA)

Analizę przeprowadzono zgodnie z metodami opisanymi przez Shah i wsp., (2001) oraz Wang i wsp., (2017). 1 g materiału badawczego shomogenizowano z 10 mL 0,25% TBA w 10% TCA wytrząsano w wytrząsarce obrotowej przez 30 min. Następnie ekstrakt odwirowywano przez 10 min, przy 9000 rpm (4°C) i przefiltrowano. Supernatant po ekstrakcji inkubowano w łaźni wodnej w temperaturze 100°C przez 30 minut, a następnie szybko schłodzono (w łaźni lodowej). Następnie ekstrakt rozcieńczono (1,25 mL ekstraktu: 1 mL wody) i zmierzono absorbancję przy 600 nm, 532 nm i 450 nm w stosunku do próby ślepej za pomocą spektrofotometru UV-VIS. Wyniki wyrażono jako MDA  $\mu\text{mol/g}$  s.m. Pomiar przeprowadzono w trzech powtórzeniach w każdym dniu analizy. Analizę prowadzono w celu realizacji badań zaplanowanych w etapie I.

#### Skład gazu wewnątrz opakowania

Analizę składu gazu ( $\text{CO}_2$  i  $\text{O}_2$ ) przeprowadzono przy użyciu analizatora gazu (Witt-Gasetechnik, Written, Niemcy). Analizę prowadzono w celu realizacji badań zaplanowanych w etapie I.

#### Analiza reologii

Krzywe płynięcia wyznaczono za pomocą reometru MARS III (moduł temperaturowy MTMC-MARS) w trybie CR z systemem pomiarowym z cylindrem współosiowym (CC25 DIN Ti) ze szczeliną 5,3 mm, przy czym pomiary wykonywano w temperaturze 5°C. Szybkość ścinania zwiększano z 0 do 80  $\text{s}^{-1}$  przez 5 min, a następnie zmniejszano z 80 do 0  $\text{s}^{-1}$  przez 5 min. Do opisu krzywych płynięcia zastosowano metodę analizy reologicznej Ostwald-de Waele. Obszary tiksotropii i pętli histerezy obliczano zgodnie z metodą opisaną przez Sikora i wsp., (2015). Analizę prowadzono w celu realizacji badań zaplanowanych w etapie II.

## Analiza metodą skaningowego mikroskopu elektronowego (SEM)

Analiza morfologii kapsułek została przeanalizowana, przy użyciu wysokorozdzielczego, skaningowego mikroskopu elektronowego JEOL JSM – 7500 F, wg metodyki opisanej przez Nowak i wsp., (2021). Analizę prowadzono w celu realizacji badań zaplanowanych w etapie II oraz III.

## Analiza metodą spektroskopii w podczerwieni z transformacją Fouriera (FTIR)

Widma FTIR biokompozytów rejestrowano w zakresie 4000-700 cm<sup>-1</sup> przy użyciu spektrofotometru MATTSON 3000 FT-IR (Madison, Wisconsin, USA). Urządzenie było wyposażone w przystawkę 30SPEC 30 Degree Reflectance i akcesorium MIRacle ATR (PIKE Technologies Inc., Madison, WI, USA). Analizę prowadzono w celu realizacji badań zaplanowanych w etapie II.

## Analiza zmian masy przechowalniczej

Zmianę masy przechowalniczej przedstawiano, jako zmianę procentową i obliczano według następującego równania (Barrera i wsp., 2021). Analizę prowadzono w celu realizacji badań zaplanowanych w etapie I oraz II.

$$zmp \% = \frac{W_0 - W_s}{W_s} \times 100$$

gdzie:

zmp – zmiana masy przechowalniczej

W<sub>0</sub> - masa materiału badawczego w dniu 0,

W<sub>s</sub>– masa materiału badawczego po przechowywaniu

## Analiza zmian masy po obróbce termicznej (wyciek termiczny)

Zmiany masy termicznej przedstawiano, jako zmianę procentową i obliczano według następującego równania (Jiménez-Colmenero i wsp., 2013). Analizę prowadzono w celu realizacji badań zaplanowanych w etapie II oraz III.

$$zmt \% = \frac{W_s - W_g}{W_g} \times 100$$



gdzie:

zmt – zmiana masy termicznej

Ws – masa surowego materiału badawczego,

Wg – masa grillowanego materiału badawczego

## Pomiar pH

Pomiar pH realizowano za pomocą cyfrowego pehametru (FiveEasy F20, Mettler Toledo, Warszawa, Polska). Analizę prowadzono w celu realizacji badań zaplanowanych w etapie II oraz III.

## Analiza zdolności utrzymania wody własnej

Analizę zdolności zatrzymywania wody własnej (ang. water holding capacity, WHC) przeprowadzono według metody Grau i Hamm (1953). 300 mg próbki umieszczano na bibule filtracyjnej Whatman nr 1 pomiędzy dwoma szklanymi płytkami, pod ciężarem 2000 g przez 5 min. Do wykonania zdjęć plam prasowanych, użyto systemu Kaiser (Niemcy) wyposażonego w program OImaging MicroPublisher 5.0 RTV (Kanada). Obszary mięsa (Am) i płynu (Ap) oceniano za pomocą oprogramowania Image-Pro Plus (v.7.0). Wartości WHC obliczono przy użyciu poniższego wzoru (Delgado-Pando i wsp., 2012). Analizę prowadzono w celu realizacji badań zaplanowanych w etapie II.

$$WHC (\%) = \left( \frac{Am}{Ap} \right) \times 100$$

gdzie:

Am - obszary mięsa [mm<sup>2</sup>]

Ap - obszary wycieku [mm<sup>2</sup>]

## Analiza tekstury

Analizę grillowanych burgerów przeprowadzono z wykorzystaniem testu podwójnego ściskania zgodnie z metodyką opisaną przez Afshari i wsp., (2017). Wycinano ze środka burgerów próbki w kształcie walca o średnicy 2,45 cm i wysokości 2,50 cm, które zostały poddane podwójnemu ściskaniu do momentu zmniejszenia ich początkowej wysokości o 50%, z zachowaniem 3 s czasu relaksacji. Przy stałej prędkości przesuwu głowicy 200 mm min<sup>-1</sup> próbę przeprowadzono 6-krotnie w temperaturze 4 ± 1 °C. Parametry tekstury takie jak spoistość [-] (stosunek pola powierzchni pod krzywą z drugiego ściskania do pola

powierzchni pod krzywą z pierwszego ściskania), twardość [N] (maksymalna siła pierwszego ściskania), sprężystość [-] oraz żujność [N] (twardość × spoistość × sprężystość) obliczono wg Półtorak i wsp., (2014).

Test penetracji przeprowadzono zagłębiając trzpień na głębokość 8 mm do wnętrza kapelusza pieczarki. Prędkość przesuwu głowicy podczas penetracji wynosiła 2 mm s<sup>-1</sup>. Jędrność określono jako maksymalną zarejestrowaną siłę.

Analizę prowadzono w celu realizacji badań zaplanowanych w etapie I, II oraz III analizę tekstury przeprowadzono przy użyciu uniwersalnej maszyny wytrzymałościowej Instron 5965 (Instron, USA) z głowicą pomiaru 500 [N] z oprogramowaniem Bluehill®2.

Analizę parametrów tekstury hydrożelowej emulsji przeprowadzono za pomocą analizatora tekstury (TA.XTplusC Texture Analyzer) testem penetracji z użyciem czujników Perspex 45° TTC Spreadability Rig Cone Sensors (Stable Micro System, Ltd., Goldaming, UK). Początkowo temperaturę próbki utrzymywano na poziomie 5°C przez 24 h, a następnie przeprowadzono penetrację do głębokości 23 mm, z prędkością 3 mm/s. Na podstawie uzyskanych danych, przy użyciu oprogramowania exponent connect, wyznaczono następujące parametry: jędrność (N), smarowność (N×s), lepkość (Pa×s) i kleistość (N×s). Analizę prowadzono w celu realizacji badań zaplanowanych w etapie II.

#### Analiza barwy

Analizę barwy przeprowadzono przy użyciu chromametry Minolta CR-400 (ścieżka optyczna 10 mm) z przystawką CA-A98 (Konica Minolta Inc., Japonia), oświetlaczem D<sub>65</sub> (temperatura barwy: 6500 K) i obserwatorem standardowym (2°) w układzie CIE L\*a\*b\*. Średnica głowicy pomiarowej wynosiła 8 mm. Do kalibracji zastosowano białą płytkę wzorcową (L\*=98,45, a\*=-0,10, b\*=-0,13). Dodatkowo obliczono wartość całkowitej różnicy barw (ΔE) według wzoru Djekica i wsp., (2016). Wskaźnik brązowienia (BI) obliczono wg wzoru Hsu i wsp., (1988). Analizę prowadzono w celu realizacji badań zaplanowanych w etapie I, II oraz III.

$$BI = \frac{100(x - 0,31)}{0,17}$$

gdzie:

$$x = (a^* + 1.75 L^*) / (5.645 L^* + a^* - 3.012 b^*)$$

Pomiar powierzchni brązowienia wewnętrznego pieczarki dwuzarodnikowej, przeprowadzono na przekroju poprzecznym wzdłuż osi symetrii. Pomiar prowadzono

z wykorzystaniem komputerowej analizy obrazu przy użyciu programu Imaging MicroPublisher 5.0 RTV (Kanada) współpracującego z systemem Kaiser (Niemcy). Obszar brązowienia obliczano przy użyciu oprogramowania Image-Pro Plus (v.7.0). Pomiary wykonano w osiemnastu powtórzeniach dla każdej grupy, a wyniki przedstawiono jako procentowe zbrązowienie wewnętrznej części kapeluszy pieczarek. Do obliczeń wykorzystano następujące równanie wg Filimonau i wsp., (2021). Analizę prowadzono w celu realizacji badań zaplanowanych w etapie I.

$$\text{Brązowienie (\%)} = \frac{P_b}{P_c} \times 100$$

gdzie:

$P_b$  - brązowa powierzchnia kapelusza pieczarki,

$P_c$  - całkowita powierzchnia kapelusza pieczarki

### Analiza statystyczna

Analizę statystyczną przeprowadzono przy użyciu oprogramowania STATISTICA wersja 13.3 (StatSoft, Tulsa, OK, USA). Normalność rozkładu danych sprawdzono za pomocą testu Shapiro-Wilka. Do weryfikacji różnic w parametrach chemicznych i fizycznych zastosowano jednokierunkową analizę wariancji, a następnie test Tukeya HSD.

W przypadku analizy wieloczynnikowej wyznaczono 95%, 99% i 99,9% przedziały ufności, a w przypadku jednokierunkowej ANOVA 95%. Do analizy składowych głównych (PCA) wykorzystano oprogramowanie AlphaSoft wersja 8.0. Analizę zastosowano w celu realizacji etapu I, II oraz III.

Parametry tekstury burgerów poddano analizie ANOVA Kruskala-Wallisa, a następnie wielokrotnym porównaniom średnich rang. Ponadto za pomocą współczynników korelacji Pearsona określono siłę zależności pomiędzy profilem kwasów tłuszczowych (SFA, MUFA i PUFA), parametrami tekstury (sprężystość, żuwalność, spoistość i twardość), zmiana masy po przechowywaniu oraz obróbce termicznej, WHC, pH oraz parametrami barwy ( $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$  i BI). Dla wszystkich analiz wyznaczono 95% przedziały ufności. Analizę zastosowano w celu realizacji etapu II.

Ponadto za pomocą współczynników korelacji Pearsona określono siłę zależności pomiędzy profilem kwasów tłuszczowych (SFA, MUFA i PUFA), parametrami tekstury (sprężystość, twardość), zmianą masy termicznej, pH i parametrami barwy ( $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ )  $p \leq 0,05$ . Analizę zastosowano w celu realizacji etapu III.

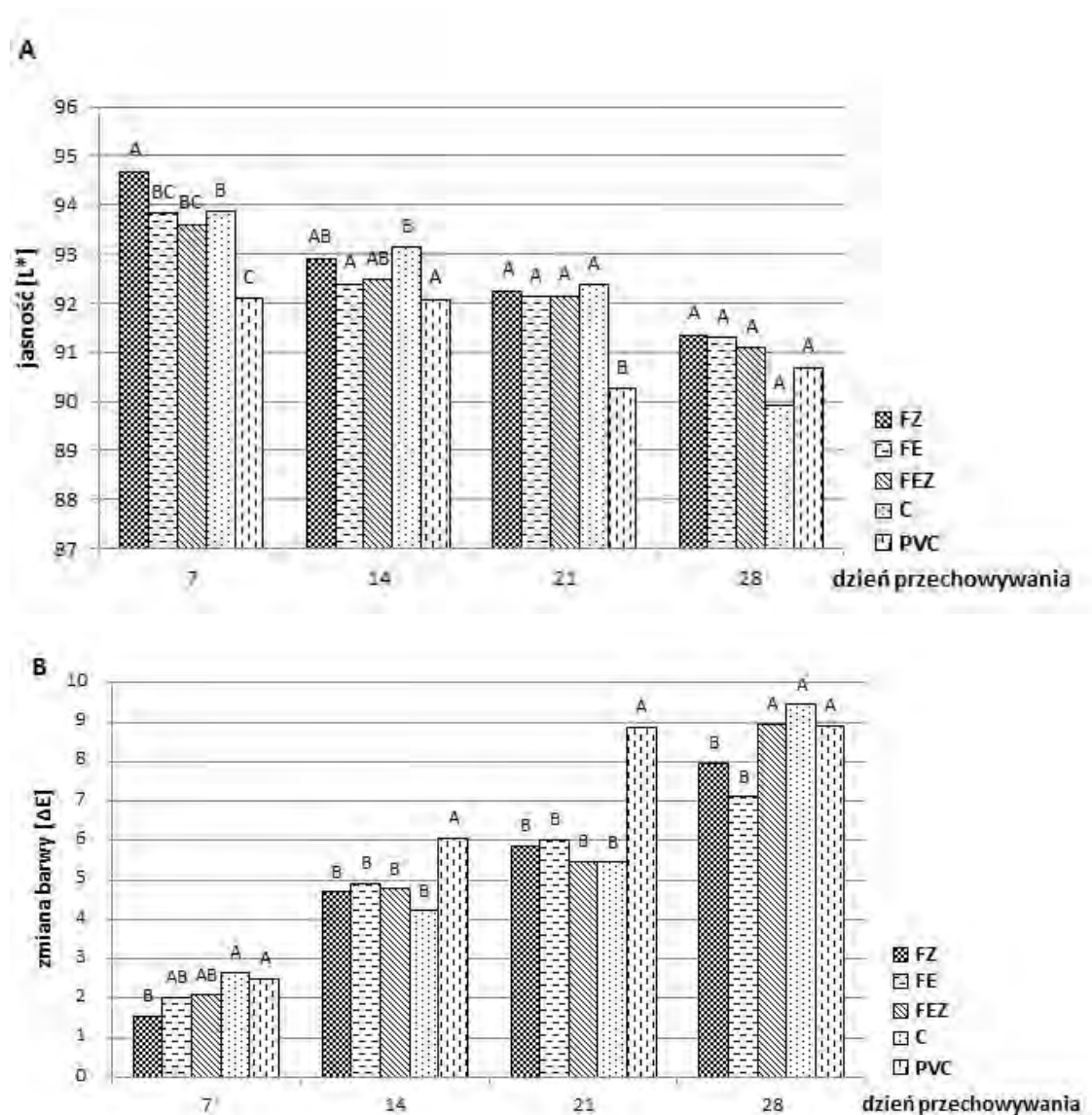
## 5. Syntetyczne omówienie wyników badań

### 5.1 Etap I - wpływ ekstraktu z acai w formie aktywnego opakowania na cechy fizykochemiczne *Agaricus bisporus* w trakcie przechowywania

W etapie I ocenie poddano pieczarki *Agaricus bisporus* przechowywane w aktywnych opakowaniach w warunkach chłodniczych. Materiał badawczy poddano badaniom fizycznym oraz chemicznym.

#### Analiza zmian barwy zewnętrznej i wewnętrznej *Agaricus bisporus*

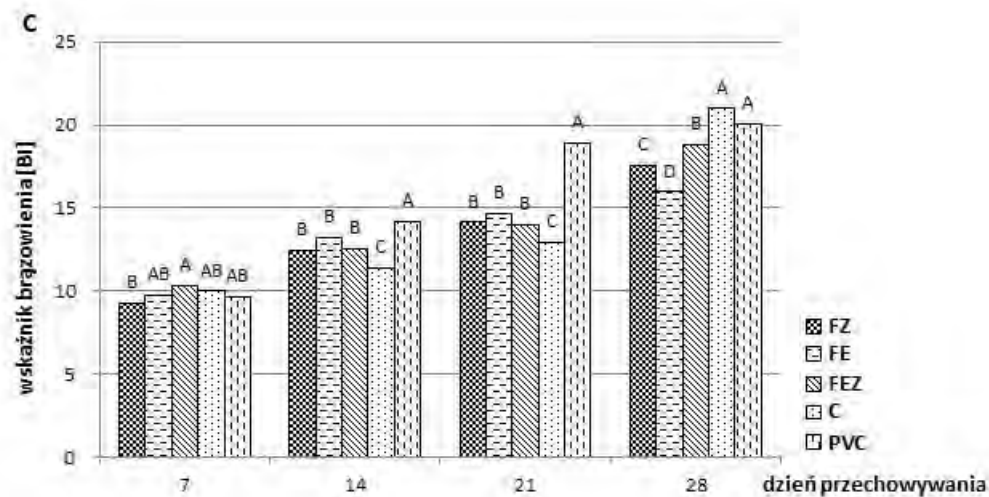
Stopień akceptowalności grzybów *A. bisporus* przez konsumentów zależy głównie od stopnia zbrązowienia. Analiza literatury wykazała, że konsumenci najchętniej wybierają białe pieczarki dwuzarodnikowe (Zhang i wsp., 2019). Barwa kapelusza *Agaricus bisporus* zależy od czynników zarówno zewnętrznych, jak i wewnętrznych. Wśród czynników zewnętrznych wyróżnić możemy: toksyny, uszkodzenia mechaniczne oraz rozwój patogenów, które powodują przerwanie ciągłości błon wewnątrzkomórkowych. Do czynników wewnętrznych zaliczyć możemy enzymy reagujące z substratami, np. tyrozynaza, która katalizuje przekształcenie związków fenolowych w związki niezbędne do rozpoczęcia syntezy melaniny (Zhang i wsp., 2018, Lin i wsp., 2019). Dlatego też, pomiar  $L^*$ , BI,  $\Delta E$  i stopnia zbrązowienia wewnątrz kapelusza jest niezbędny do oceny wartości handlowej grzybów. Analizę barwy *A. bisporus* przechowywanych w aktywnych opakowaniach w warunkach chłodniczych (4°C) przez 28 dni zostały przedstawione na Rys. 1A, 1B, 1C, 1D. Analiza otrzymanych wyników wykazała, że parametr barwy  $L^*$  (jasności, rys. 1A) zmniejszał się w czasie przechowywania i mieścił się w przedziale od 94,95 (pieczarki świeże, dzień 0) do 89,93 (C, 28 dzień przechowywania). Zmniejszające się wartości jasności wskazują na ciemnienie pieczarek. Potwierdzają to również wyniki analizy pomiarów parametru  $a^*$  i  $b^*$  (dane nie pokazane), których wartość wzrastała podczas przechowywania. Proporcja parametru  $a^*$  (składowe czerwone) do  $b^*$  (składowe żółte), odzwierciedla proces brązowienia pieczarek (Walkowiak-Tomeczak i wsp., 2020). W przeprowadzonym doświadczeniu w 14 i 21 dniu przechowywania nie stwierdzono różnic statystycznych w parametrze  $\Delta E$  pomiędzy grupą C a FE, FZ, FEZ. Z kolei różnice te zaobserwowano po 28 dniach przechowywania (rys. 1B). Aktywne opakowanie z udziałem FZ i FEZ wpłynęło na zmniejszenie wartości parametru  $\Delta E$ .



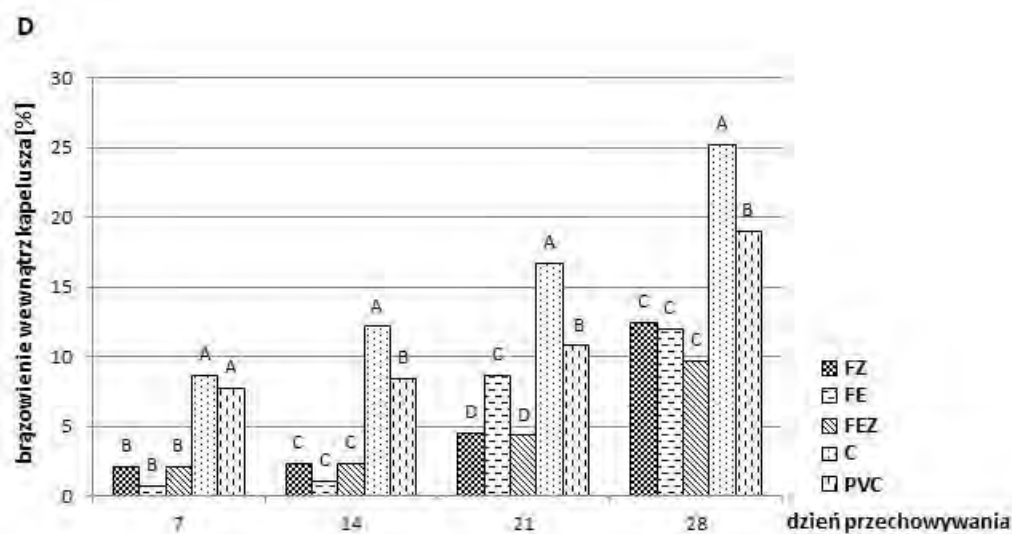
Rys. 1A, 1B. Analiza barwy zewnętrznej kapelusza *Agaricus bisporus* wskaźnik jasność (A) oraz zmiana barwy (B) w opakowaniach aktywnych z zeolitem (FZ), ekstraktem z acai (FE), ekstraktem z acai + zeolitem (FEZ) pakowanych w MAP, bez opakowania aktywnego w MAP (C) i pakowanych w folię z polichlorku winylu (PVC). Analizę barwy przeprowadzono w 7, 14, 21 oraz 28 dniu przechowywania. A-D - litery oznaczają różnicę statystyczną pomiędzy wariantami w tym samym dniu przechowywania.

Podobne wyniki uzyskano dla analizy BI (rys. 1C), gdzie aktywne opakowania z udziałem zeolitu i ekstraktu z acai w porównaniu do C i PVC spowalniały proces brązowienia. Dla konsumentów, oprócz barwy zewnętrznej, ważna jest również barwa wewnętrzna, ponieważ odpowiada ona za postrzeganie świeżości produktu. W przeprowadzonym doświadczeniu zastosowanie aktywnego opakowania znacząco zmniejszyło stopień zbrązowienia pieczarek wewnątrz kapelusza (rys. 1D). Badania przeprowadzone przez Zhang i wsp., (2019) wykazały pozytywny wpływ aktywnego

opakowania z zastosowaniem powłoki z nano-SiO<sub>2</sub>/glukomannanu/karagenu zarówno na barwę zewnętrzną, jak i wewnętrzne ciemnienie pieczarek podczas przechowywania. Pozytywny wpływ ekstraktu z zielonej herbaty, jako składnik aktywnego opakowania, na zmianę barwy wykazali również Wrona i wsp., (2015).



Ca

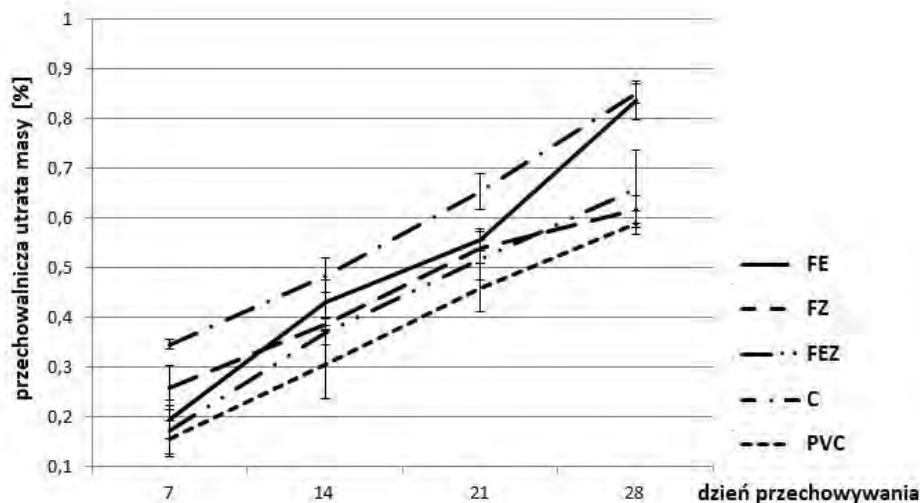


Rys. 1C, 1D. Analiza barwy zewnętrznej kapelusza *Agaricus bisporus*: wskaźnik brązowienia (C) oraz stopień brązowienia wewnątrz kapelusza (D) w opakowaniach aktywnych z zeolitem (FZ), ekstraktem z açaı (FE), ekstraktem z açaı + zeolitem (FEZ) pakowanych w MAP, bez opakowania aktywnego w MAP (C) i pakowanych w folię z polichlorku winylu (PVC). Analizę barwy przeprowadzono w 7, 14, 21 oraz 28 dniu przechowywania. <sup>A-D</sup> - litery oznaczają różnicę statystyczną pomiędzy wariantami w tym samym dniu przechowywania.

W przeprowadzonym doświadczeniu z zastosowaniem aktywnego opakowania (zeolit, ekstrakt z acai, ekstrakt z acai + zeolit) przechowywane pieczarki w 28 dniu charakteryzowały się wartością  $L > 86$ , uzyskany wynik świadczy o dobrej jakości pieczarek. Odnosząc się do przedstawionych wyników, zastosowanie aktywnego opakowania zawierającego 3% (w/v) ekstraktu z owoców acai i 1% (w/v) zeolitu miało zauważalny pozytywny wpływ na ograniczenie zmiany barwy, indeksu brązowienia i brązowienia wewnętrznego kapeluszy pieczarek.

### Analiza zmiany masy przechowalniczej oraz analiza tekstury

Podczas procesu przechowywania świeżych produktów spożywczych często spotykanym zjawiskiem jest strata masy. Proces ten wpływa na cechy jakościowe, m.in. teksturę (Shekari i wsp., 2021). W przeprowadzonym doświadczeniu, stopień zmiany masy pieczarki wzrastał liniowo z każdym kolejnym dniem badawczym w trakcie przechowywania (7, 14, 21, 28 dni) we wszystkich zastosowanych formach pakowania (rys. 2).



Rys. 2. Analiza utraty masy *Agaricus bisporus* przechowywanych w opakowaniach aktywnych (z zeolitem (FZ), ekstraktem z acai (FE), ekstraktem z acai + zeolitem (FEZ)) pakowanych w MAP, bez opakowania aktywnego w MAP (C) i pakowanych w folię z polichlorku winylu (PVC). Analizę przeprowadzono w 7, 14, 21 oraz 28 dniu przechowywania. Błąd standardowy przedstawiono w postaci pionowych słupków.

Otrzymane wyniki analizy wynosiły od 0,15% (PVC, dzień 7) do 0,85% (C, dzień 28). Przeprowadzona analiza wykazała, że w 28 dniu przechowywania istotnie statystycznie

różnią się warianty C, FE od PVC, FZ, FEZ. Niska utrata wody w przypadku PVC jest spowodowana prawdopodobnie niskim stopniem perforacji folii, PVC charakteryzuje się niską przepuszczalnością wody (Oz i wsp., 2015, Pogorzelska-Nowicka i wsp., 2020). Ponadto, nie zaobserwowano różnic statystycznych w porównaniu z folią PVC oraz opakowaniami aktywnymi z ekstraktem z acai + zeolitem oraz zeolitem (1,5% w/v + 0,5% w/v, 1% w/v odpowiednio) po 28 dniach przechowywania. Prawdopodobnie poprzez właściwości absorpcyjne zeolitu, utrzymujące wilgotność wewnątrz opakowania przyczyniły się do spowolnienia utraty wody przez pieczarki (Nagrockiene i wsp., 2016).

Procesy fizjologiczne zachodzące podczas przechowywania wpływają na zmianę właściwości fizycznych pieczarek. W przeprowadzonych badaniach twardość zmniejszała się podczas przechowywania, niezależnie od rodzaju zastosowanego opakowania aktywnego (tab. 3). Zmiany te związane są z degradacją białek i polisacharydów, zawartością wody i jej migracją, a także zmianami przepuszczalności błony komórkowej (Djekic i wsp., 2016, Ghasemi-Vernamkhasti i wsp., 2018). Jędrność badanych pieczarek wahała się od 14,33 [N] w dniu 0 do 8,07 [N] w ostatnim dniu przechowywania (28 dzień). Nie zaobserwowano różnic statystycznych w 21 i 28 dniu przechowywania, niezależnie od rodzaju zastosowanego opakowania aktywnego. Wyniki te mogą być spowodowane zmianami metabolicznymi zachodzącymi w grzybach, które powodują degradację ściany komórkowej, wzrost aktywności autolizy endogennej, niszczenie wakuoli centralnych, a także zmniejszenie tworzenia się ligniny w ścianie komórkowej (Antmann i wsp., 2008, Singh i wsp., 2018, Zhang i wsp., 2020). Niemniej jednak na jędrność pieczarek mogą wpływać także inne czynniki, takie jak skład gazów w przestrzeni opakowania (stężenie CO<sub>2</sub>) oraz wilgotność względna (Salamat i wsp., 2020).

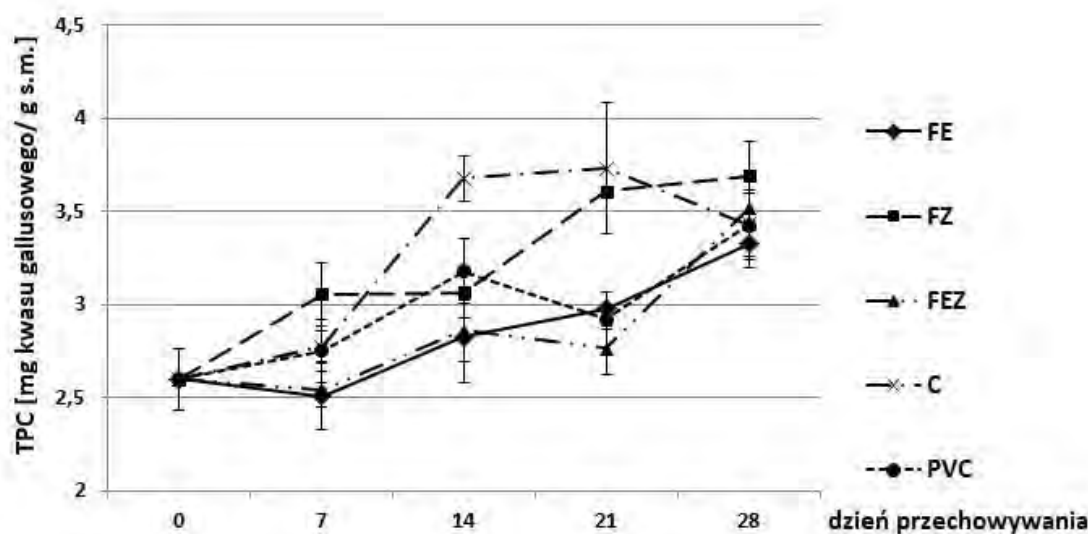


Tab. 3. Analiza tekstury (twardość) kapelusza pieczarki dwuzarodnikowej przechowywanej w aktywnym opakowaniu zawierającym zeolit (FZ), ekstrakt acai (FE), ekstrakt acai + zeolit (FEZ) w MAP, bez aktywnego pakowania w MAP (C), pakowanych w folię z polichlorku winylu (PVC) w 0, 7, 14, 21 oraz 28 dniu przechowywania.

| Dzień przechowywania | Typ opakowania | Twardość [N]        |
|----------------------|----------------|---------------------|
| 0                    | FM *           | 14,33               |
|                      | FZ             | 12,41 <sup>A</sup>  |
|                      | FE             | 12,86 <sup>AB</sup> |
| 7                    | FEZ            | 13,35 <sup>AB</sup> |
|                      | C              | 13,25 <sup>AB</sup> |
|                      | PVC            | 13,83 <sup>B</sup>  |
|                      | FZ             | 12,14 <sup>B</sup>  |
|                      | FE             | 10,94 <sup>A</sup>  |
| 14                   | FEZ            | 11,19 <sup>AB</sup> |
|                      | C              | 11,27 <sup>AB</sup> |
|                      | PVC            | 12,14 <sup>B</sup>  |
|                      | FZ             | 9,66 <sup>A</sup>   |
|                      | FE             | 9,83 <sup>A</sup>   |
| 21                   | FEZ            | 10,02 <sup>A</sup>  |
|                      | C              | 9,02 <sup>A</sup>   |
|                      | PVC            | 9,29 <sup>A</sup>   |
|                      | FZ             | 9,26 <sup>A</sup>   |
|                      | FE             | 9,90 <sup>A</sup>   |
| 28                   | FEZ            | 9,71 <sup>A</sup>   |
|                      | C              | 8,07 <sup>A</sup>   |
|                      | PVC            | 8,43 <sup>A</sup>   |

### Analiza zmian związków fenolowych

Brązowienie pieczarek dwuzarodnikowych jest wynikiem stresu pozbiorniczego spowodowanego utlenianiem związków fenolowych przez oksydazę polifenolową (PPO, EC1.10.3.1). Fenole posiadają silną zdolność przeciwutleniającą, która hamuje łańcuchowe reakcje utleniania, a tym samym opóźnia peroksydację lipidów (Gao i wsp., 2014, Dokhanieh i wsp., 2016). Zmiany w zawartości TPC w *A. bisporus* przechowywanych w aktywnych opakowaniach przez 28 dni przedstawiono na rys. 3. Zawartość fenoli ogółem wzrastała w kolejnych dniach przechowywania w porównaniu do dnia 0. Analizując wyniki TPC uzyskane z pieczarek pakowanych w MAP, można zauważyć wzrost zawartości tych związków do 21 dnia (3,73 mg kwasu galusowego g<sup>-1</sup> s.m.), po którym nastąpił ich istotny spadek (3,42 mg kwasu galusowego g<sup>-1</sup> s.m.).



Rys. 3. Analiza całkowitej zawartości fenoli (TPC) *Agaricus bisporus* przechowywanych w aktywnym opakowaniu zawierającym zeolit (FZ), ekstrakt acai (FE), ekstrakt acai + zeolit (FEZ) w MAP, bez aktywnego pakowania w MAP (C), pakowanych w folię z polichlorku winylu (PVC). Błąd standardowy przedstawiono w postaci pionowych słupków.

W wyniku zastosowania aktywnego opakowania z zeolitem (FZ) oraz opakowania w MAP (C) odnotowano istotny wzrost zawartości TPC w pieczarkach po 21 dniach przechowywania (3,61; 3,73 mg kwasu galusowego g<sup>-1</sup> s.m.), natomiast w wariantach FE, FEZ, PVC był on statystycznie niższy (2,76-2,92 mg kwasu galusowego g<sup>-1</sup> s.m.). Analiza korelacji Pearsona (tab. 4) wykazała dodatnią korelację ( $p \leq 0,001$ ) pomiędzy zawartością polifenoli a indeksem brązowienia. Korelacja ta potwierdza związek między zawartością TPC, które są głównymi substratami w procesie brązowienia inicjowanym przez oksydazę polifenolową (tyrozynazę) i lakazę (Lin i wsp., 2019, Wrona i wsp., 2015), a stopniem brązowienia mierzonym instrumentalnie.

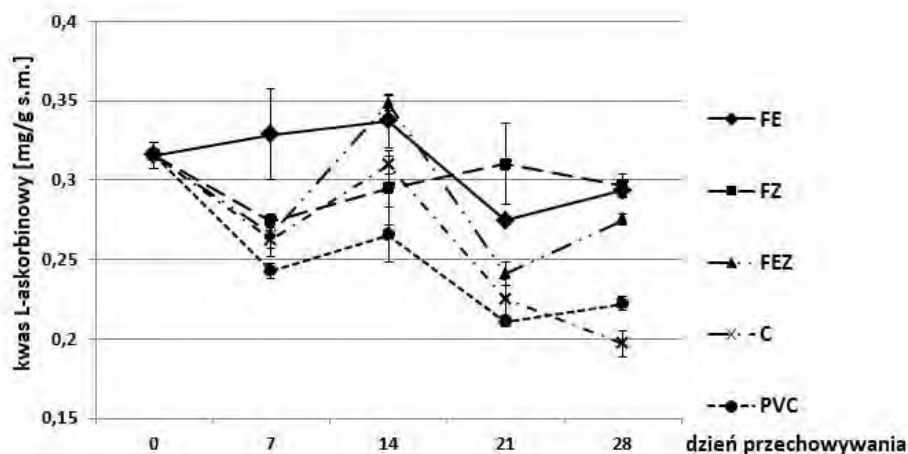
Tab. 4. Analiza współczynników korelacji Pearsona parametrów jakościowych pieczarek dwuzarodnikowych pomiędzy całkowitą zawartością fenoli (TPC), witaminy C (wit. C), dialdehydu malonowego (MDA), aktywnością przeciwutleniającą (DPPH, FRAP), jasnością ( $L^*$ ), zmianą barwy ( $\Delta E$ ), indeksem brązowienia (BI) i brązowieniem wewnątrz kapelusza (BIMC).

|                              | Wit. C | MDA   | DPPH  | FRAP    | TPC     | $L^*$    | $\Delta E$ | BI      | BIMC   |
|------------------------------|--------|-------|-------|---------|---------|----------|------------|---------|--------|
| <b>Wit. C</b>                | 1,00   | -0,10 | 0,19* | 0,11    | -0,11   | 0,07     | -0,30***   | -0,46** | -0,06  |
| <b>MDA</b>                   |        | 1,00  | 0,08  | -0,09   | 0,05    | -0,19*   | 0,16       | 0,03    | 0,22*  |
| <b>DPPH</b>                  |        |       | 1,00  | 0,52*** | 0,55*** | -0,43*** | -0,02      | 0,31*** | 0,05   |
| <b>FRAP</b>                  |        |       |       | 1,00    | 0,66*** | -0,3***  | 0,14       | 0,11    | -0,21* |
| <b>TPC</b>                   |        |       |       |         | 1,00    | -0,12    | 0,13       | 0,36*** | -0,08  |
| <b><math>L^*</math></b>      |        |       |       |         |         | 1,00     | 0,14       | -0,22*  | -0,15  |
| <b><math>\Delta E</math></b> |        |       |       |         |         |          | 1,00       | 0,46*** | 0,08   |
| <b>BI</b>                    |        |       |       |         |         |          |            | 1,00    | -0,11  |
| <b>BIMC</b>                  |        |       |       |         |         |          |            |         | 1,00   |

\*\*\* istotny dla  $p \leq 0,001$ ; \*\* istotny dla  $p \leq 0,01$ ; \* istotny dla  $p \leq 0,05$

### Analiza zawartości kwasu L-askorbinowego

Według literatury, synteza kwasu L-askorbinowego w pieczarkach zachodzi na co najmniej trzech szlakach biosyntezy (Gao i wsp., 2014). Zawartość kwasu L-askorbinowego w pieczarkach przechowywanych w aktywnym opakowaniu oraz bez, wahała się od 0,197 do 0,337 mg kwasu L-askorbinowego  $g^{-1}$  s.m. (rys. 4).



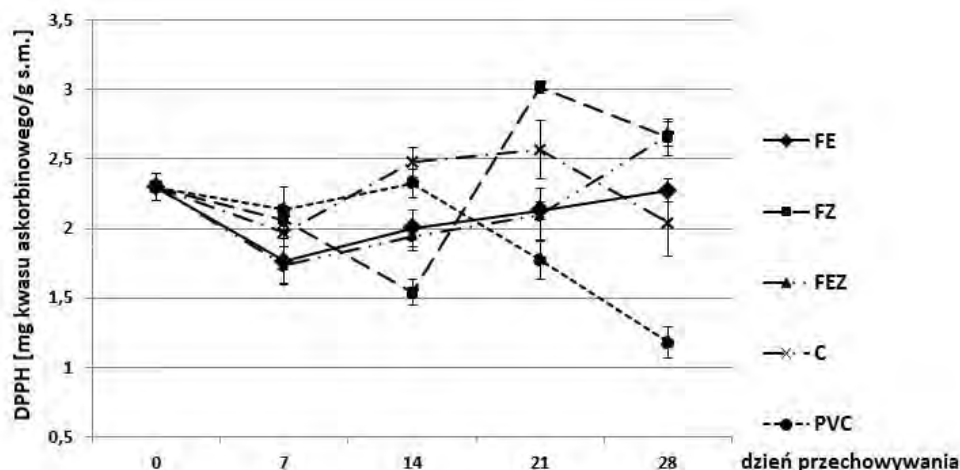
Rys. 4. Analiza zawartości witaminy C (kwas L-askorbinowy) *Agaricus bisporus* przechowywanych w aktywnym opakowaniu zawierającym zeolit (FZ), ekstrakt acai (FE), ekstrakt acai + zeolit (FEZ) w MAP, bez aktywnego pakowania w MAP (C), pakowanych w folię z polichlorku winylu (PVC). Błąd standardowy przedstawiono w postaci pionowych słupków.

Najniższe wartości przez cały okres przechowywania (28 dni) obserwowano dla grup PVC i C (0,211-0,265 mg kwasu askorbinowego  $g^{-1}$  s.m.). Obniżenie zawartości kwasu

L- askorbinowego w czasie przechowywania było prawdopodobnie spowodowane zarówno reakcjami utleniania enzymatycznego, jak i procesami utleniania inicjowanymi przez reaktywne formy tlenu (Vunduk i wsp., 2021, Ojeda i wsp., 2019). Zawartość kwasu L- askorbinowego po siedmiu dniach przechowywania znacznie spadła we wszystkich grupach, z wyjątkiem pieczarek pakowanych w opakowania aktywne wzbogacone ekstraktem z acai. W tej grupie zawartość kwasu L-askorbinowego w pieczarkach wzrosła (7, 14 dzień przechowywania) w porównaniu z dniem zerowym. Zjawisko to potwierdza hipotezę, że związki sygnalizacyjne mogą wpływać na owoce/rośliny wywołując łagodny stres w komórkach, który indukuje odpowiedź obronną poprzez produkcję metabolitów wtórnych, takich jak kwasu L-askorbinowego (Montero-Prado i wsp., 2013, Gutiérrez i wsp., 2010, Tokarz i wsp., 2020). W grupach PVC, FEZ i C obserwowano tendencję do szybkiego spadku, następnie niewielkiego wzrostu i ponownego spadku do 21 dnia przechowywania. Analiza korelacji (tab. 4) wykazała, że stopień zawartości witaminy C był ujemnie skorelowany z parametrami barwy ( $\Delta E$ ,  $p \leq 0,001$  i BI,  $p \leq 0,01$ ). Wynik ten jest zgodny z hipotezą przedstawioną przez Hsu i wsp., (1988) zakładającą, że kwas askorbinowy jest inhibitorem brązowienia enzymatycznego. Kwas askorbinowy zmniejsza konwersję o- chinonu do substratu fenolowego. Natomiast dodatnią korelację odnotowano dla aktywności przeciwutleniającej DPPH ( $p \leq 0,05$ ). Powszechnie uważa się, że witamina C ma właściwości przeciwutleniające, ponieważ działa jako donor pojedynczych atomów wodoru, a anion rodnikowy monodehydroaskorbinianu reaguje głównie z rodnikami (Janani i wsp., 2020, Njus i wsp., 2020).

### **Aktywność przeciwutleniająca (DPPH i FRAP)**

Zarówno analizy DPPH, jak i FRAP są dobrze znanymi i szeroko stosowanymi metodami oceny zdolności cząsteczek do neutralizowania wolnych rodników. Metoda FRAP mierzy zdolność ekstraktów do redukcji kompleksu trifirydylo-triazyny do formy żelazowej. Z kolei metoda DPPH opiera się na aktywności zmiatania wolnych rodników (Lin i wsp., 2018). Aktywność zmiatania rodników DPPH przez ekstrakt z *A. bisporus* analizowano w 7, 14, 21, 28 dniu przechowywania (rys. 5).

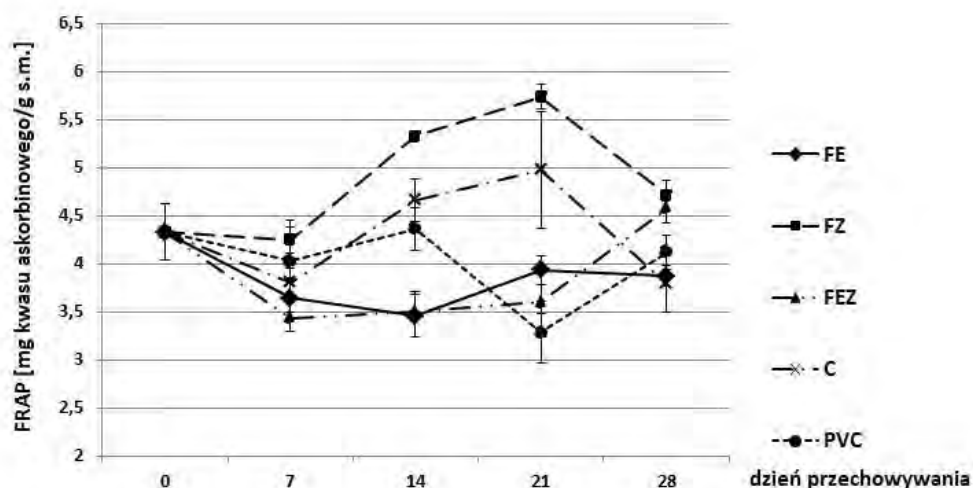


Rys. 5. Analiza aktywności antyoksydacyjnej DPPH *Agaricus bisporus* przechowywanych w aktywnym opakowaniu zawierającym zeolit (FZ), ekstrakt açai (FE), ekstrakt açai + zeolit (FEZ) w MAP, bez aktywnego pakowania w MAP (C), pakowanych w folię z polichlorku winylu (PVC). Błąd standardowy przedstawiono w postaci pionowych słupków.

Po siedmiu dniach przechowywania we wszystkich grupach aktywność zmiatania wolnych rodników metodą DPPH zmniejszyła się. Po 21 dniach zaobserwowano tendencję wzrostową aktywności przeciwutleniającej dla pieczarek przechowywanych w aktywnym opakowaniu w porównaniu z pieczarkami owiniętymi folią PVC. Ponadto, w 28 dniu przechowywania, w grupach PVC i C zaobserwowano najniższą zdolność przeciwutleniającą (odpowiednio 1,18 i 1,78 mg kwasu askorbinowego g<sup>-1</sup> s.m.). Wynik ten wskazuje, że pomimo porównywalnych wartości TPC (3,32 - 3,69 mg kwasu galusowego/g<sup>-1</sup> s.m., w 28 dniu przechowywania) dla każdego wariantu opakowania, aktywność przeciwutleniająca (DPPH) była istotnie różna. Różnice te mogą wynikać z faktu, że każdy związek należący do grupy fenoli ma inne właściwości przeciwutleniające lub, że związki fenolowe wykorzystały już swój potencjał zmiatania wolnych rodników (Huyut i wsp., 2017, Chen i wsp., 2020). Na podstawie współczynników korelacji Pearsona (tab. 4) zaobserwowano dodatnią zależność pomiędzy aktywnością antyoksydacyjną (DPPH) a zawartością witaminy C ( $p \leq 0,05$ ) i TPC ( $p \leq 0,001$ ). Zwiększona aktywność szlaku fenylopropanoidowego prowadząca do syntezy fenoli, przyczynia się do zwiększenia aktywności przeciwutleniającej pieczarek (Liu i wsp., 2014). Fenole są jednak substratami dla reakcji enzymatycznej PPO, co zwiększa dynamikę przekształcania związków fenolowych w chinony, a następnie w melaninę (ciemny pigment) (Zhang i wsp., 2018).

Konsekwencją tych zmian jest prawdopodobnie ujemna korelacja ( $p \leq 0,001$ ) aktywności antyoksydacyjnej (DPPH) z jasnością pieczarek ( $L^*$ ) oraz dodatnia korelacja ( $p \leq 0,001$ ) z indeksem brązowienia (BI).

Aktywność przeciwutleniająca *A. bisporus* mierzona metodą FRAP w dniu zerowym wynosiła 4,33 mg kwasu askorbinowego  $g^{-1}$  s.m., natomiast w trakcie przechowywania wahała się od 3,29 do 5,73 mg kwasu askorbinowego  $g^{-1}$  s.m. (rys. 6).

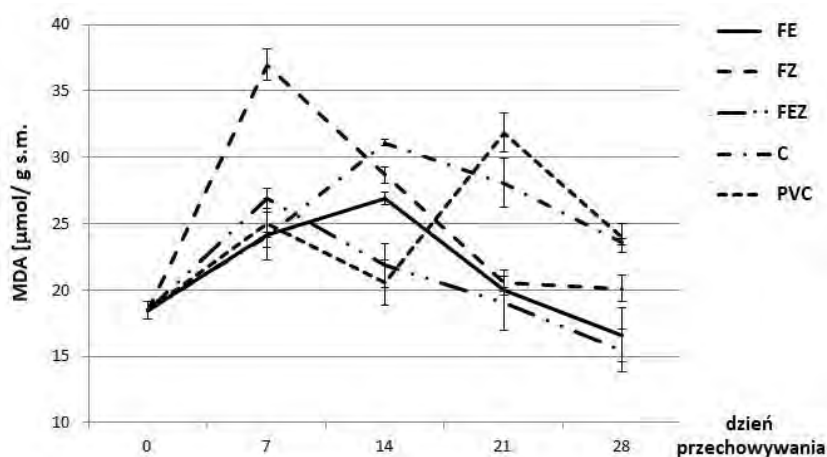


Rys. 6. Analiza aktywności antyoksydacyjnej FRAP *Agaricus bisporus* przechowywanych w aktywnym opakowaniu zawierającym zeolit (FZ), ekstrakt acai (FE), ekstrakt acai + zeolit (FEZ) w MAP, bez aktywnego pakowania w MAP (C), pakowanych w folię z polichlorku winylu (PVC). Błąd standardowy przedstawiono w postaci pionowych słupków.

Podobny wynik, jak w przypadku DPPH, uzyskano w analizie FRAP, gdzie zastosowanie aktywnego opakowania z udziałem zeolitu (28 dzień przechowywania) skutkowało wyższą aktywnością przeciwutleniającą (FRAP) w porównaniu z pozostałymi wariantami opakowań. Co ciekawe, pomimo obecności różnych rodników w analizie DPPH i FRAP, analiza korelacji Pearsona (tab. 4) wykazała silną dodatnią korelację ( $p \leq 0,001$ ) pomiędzy aktywnościami przeciwutleniającymi mierzonymi obiema tymi metodami. Ten sam stopień korelacji dla DPPH obserwuje się dla FRAP w odniesieniu do zawartości TPC (korelacja dodatnia,  $p \leq 0,001$ ) i  $L^*$  (korelacja ujemna  $p \leq 0,001$ ). Wynika to prawdopodobnie z nagromadzenia dużej ilości związków fenolowych, które są substratami dla reakcji enzymatycznego brązowienia (Wu i wsp., 2016).

## Zawartość dialdehydu malonowego

Peroksydacja lipidów wielonienasyconych kwasów tłuszczowych w błonach komórkowych prowadzi do powstania wielu produktów degradacji. Aldehyd malonowy (MDA) jest uważany za główny produkt i biomarker peroksydacji lipidów błonowych. Akumulacja MDA może powodować wiele niekorzystnych zmian, np. rozluźnienie mostków w łańcuchach celulozy lub poprzez sieciowanie kwasów nukleinowych i białek może ograniczać ich funkcje biologiczne (Hu i wsp., 2015). Niska wartość MDA (rys. 7) przez cały okres przechowywania w przypadku aktywnego pakowania z udziałem ekstraktu acai oraz ekstraktu acai + zeolitu może być związana z obecnością związków lotnych, które mogą mieć właściwości przeciwutleniające, co może spowalniać procesy utleniania (Saw i wsp., 2015, Moczowska i wsp., 2020).



Rys. 7. Analiza zawartości dialdehydu malonowego (MDA) w pieczarkach dwuzarodnikowych przechowywanych przez 28 dni w opakowaniach aktywnych (zawierające zeolit (FZ), ekstrakt z acai (FE), ekstrakt z acai + zeolit (FEZ)) pakowane w MAP, bez aktywnego opakowania w MAP (C) lub pakowane w folię z polichlorku winylu (PVC). Błąd standardowy przedstawiono w postaci poziomych słupków.

Zawartość MDA w *A. bisporus* po siedmiu dniach przechowywania wzrosła istotnie w porównaniu z dniem zerowym, niezależnie od rodzaju opakowania. Po 14 dniach przechowywania zawartość MDA w grupach PVC, FEZ i FZ zmniejszyła się, natomiast w grupach C i FE wzrosła. Z kolei w 21 dniu przechowywania zawartość MDA była niższa w porównaniu z poprzednim tygodniem w każdej grupie, z wyjątkiem PVC. Zastosowanie aktywnego opakowania, zarówno z zeolitem, ekstraktem z acai raz ich kombinacja spowodowało mniejszą akumulację MDA w porównaniu z grupą C lub PVC. Zmiany te

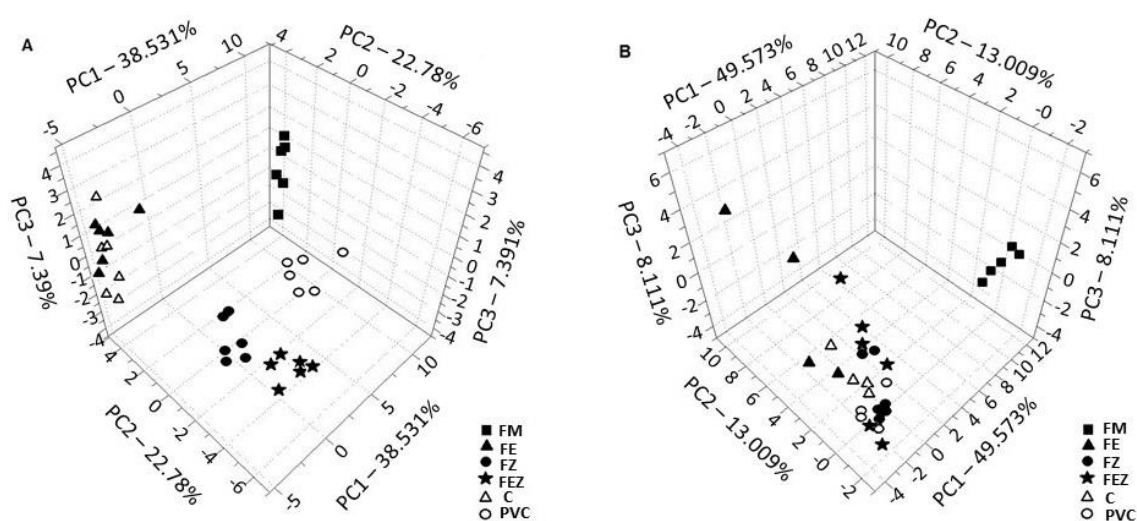
mogą być prawdopodobnie związane z mechanizmem peroksydacji lipidów. Peroksydacja lipidów to proces, podczas którego wolne rodniki (utleniacze) atakują lipidy zawierające podwójne wiązania węglowe, w szczególności wielonienasycone kwasy tłuszczowe. Kwas linolowy jest nienasyconym kwasem tłuszczowym, który w największej ilości występuje w *A. bisporus* (Nasiri i wsp., 2013). Produktami utleniania lipidów są głównie wodoronadtlenki lipidów, niemniej jednak mogą powstawać produkty wtórne, takie jak: MDA, 4-hydroksynonenal (4-HNE), heksanal, izoprostany czy propanal w wyniku procesu oksydacyjnego zależnego od rodników tlenowych. Proces ten może przebiegać z różną dynamiką i prowadzić do wytworzenia mieszaniny różnych produktów utleniania lipidów. Dlatego też, sam poziom MDA nie może dać pełnego obrazu ogólnego utleniania lipidów. Tak więc spadek zawartości MDA w grupach doświadczalnych (z wyjątkiem grupy PVC) po 21 dniach przechowywania może świadczyć o tym, że poziom MDA pokazuje tylko ułamkowy obraz stanu utlenienia lipidów w badanych próbkach (Ayala i wsp., 2014).

### **Analiza profilu związków lotnych**

Profil związków lotnych wskazuje na stopień rozwoju fizjologicznego pieczarki, co jest bezpośrednio związane z ich jakością. Analiza głównych składowych (PCA) została wykorzystana do wskazania trendu, który wyjaśnia wariancję w zbiorze danych przedstawionych na rys. 8. W 14 dniu przechowywania ponad 38% całkowitej wariancji było wyjaśnione przez pierwszą główną składową (PC1), podczas gdy druga główna składowa (PC2) wyjaśniała 22,78% całkowitej wariancji, a trzecia główna składowa (PC3) wyjaśniała 7,39% całkowitej wariancji. Jednak w 28 dniu przechowywania różnice te wzrosły i wyjaśniały całkowitą wariancję w: 49,57% dla PC1, 13% dla PC2 i 8,11% dla PC3. Związki lotne zidentyfikowane w pieczarkach dwuzarodnikowych przedstawia tab. 5. W pieczarkach świeżych wykryto dziewięć związków. Wraz z upływem czasu przechowywania zmieniała się ilość i rodzaj związków lotnych wykrytych w próbkach. Związki takie jak 1-propanol, 2,6,6-trimetylobicyklo[3.1.1]hept-2-en ( $\alpha$ -pinen) i dekanol-2-on zidentyfikowano po 14 dniach przechowywania w pieczarkach w każdej grupie badawczej. Natomiast po 28 dniach przechowywania, zidentyfikowano  $\alpha$ -pinen, 1-propanol oraz butan-2,3-dion we wszystkich badanych wariantach. Różnice i podobieństwa mogą wynikać z mechanizmów powstawania związków lotnych, które powstają poprzez przemiany metaboliczne związków nielotnych. W procesie tworzenia związków lotnych



biorą udział głównie aminokwasy i kwasy tłuszczowe. Aminokwasy ulegają redukcji do alkoholi na drodze następujących etapów: aminokwasy → alfa ketokwasy → aldehydy → alkohole (Vahdatzadeh i wsp., 2018). Z kolei kwasy tłuszczowe, zwłaszcza kwas linolowy, poddane reakcji enzymatycznej (lipooksygenaza), ulegają utlenieniu do wodoronadtlenków. Te przemiany metaboliczne są uwarunkowane wieloma czynnikami, np. genotypem, warunkami przechowywania, fazą rozwojową, a nawet niektóre deficytowe związki lotne mogą wpływać na stan fizjologiczny grzybów (Feng i wsp., 2020).



Rys. 8. Analiza głównych składowych (PCA) związków lotnych zidentyfikowanych w pieczarkach dwuzarodnikowych przechowywanych przez 28 dni w opakowaniach aktywnych (zawierające zeolit (FZ), ekstrakt z acai (FE), ekstrakt z acai + zeolit (FEZ)) pakowane w MAP, bez aktywnego opakowania w MAP (C) lub pakowane w folię z polichlorku winylu (PVC). Analizę przeprowadzono w pieczarkach świeżych (FM, dzień 0), po 14 (A) i 28 (B) dniach przechowywania.

Tab. 5. Związki lotne zidentyfikowane w pieczarkach dwuzarodnikowych przechowywanych w aktywnym opakowaniu zawierającym zeolit (FZ), ekstrakt acai (FE), ekstrakt acai + zeolit (FEZ) w MAP, bez aktywnego opakowania w MAP (C) lub pakowanych w folię z polichlorku winylu (PVC), w pieczarkach świeżych (FM, pieczarki nieprzechowywane) po 14 i 28 dniach przechowywania.

| Zidentyfikowane związki lotne               | Deskryptor sensoryczny | Dzień przechowywania |    |   |    |   |     |
|---------------------------------------------|------------------------|----------------------|----|---|----|---|-----|
|                                             |                        | 0                    | 14 |   |    |   |     |
|                                             |                        | FM                   | E  | Z | EZ | C | PVC |
| 3,7-dimetylo-2,6-oktadienal                 | cytrusowy              | +                    | +  | + |    |   |     |
| 2-metylopropanal                            | spalony                | +                    |    |   |    |   |     |
| 6-dekanal                                   | zielony                | +                    |    |   |    |   |     |
| butanal                                     | czekoladowy            |                      |    | + | +  |   | +   |
| 1-propanol                                  | alkoholowy             |                      | +  | + | +  | + | +   |
| nonan-3-ol                                  | ziołowy                | +                    |    |   |    |   |     |
| 4-metyloheksan-1-ol                         | trawiasty              | +                    | +  |   |    |   |     |
| butan-1-ol                                  | cheese                 |                      |    |   |    | + |     |
| propan-1,2-diol                             | karmelowy              |                      |    |   |    |   | +   |
| 2-metyl-5-prop-1-en-2-yl-cyclohex-2-en-1-ol | kminkowy               | +                    |    |   |    |   |     |
| kwas 2,4-heksadienoinowy                    | kwasowy                |                      | +  | + | +  | + | +   |
| kwas mrówkowy                               | kwasowy                |                      | +  |   |    | + |     |
| kwas pentanowy                              | wołowinowy             |                      |    |   |    |   |     |
| decan-2-one                                 | cytrusowy              |                      | +  | + | +  | + | +   |
| butan-2,3-dion                              | masłowy                |                      |    |   |    |   |     |
| trójchloroetan                              | słodki                 |                      | +  |   |    |   |     |
| nonane                                      | alkanowy               | +                    |    |   |    |   |     |
| 2,3-dimetoksyfenol                          | ziołowy                |                      |    |   |    |   |     |
| 2-metylofuran                               | spalony                | +                    |    |   | +  |   | +   |
| propanian metylu                            | eteryczny              |                      |    |   |    |   | +   |
| 1-metylo-4-propan-2-yl-cyclohex-1,4-diene   | cytrusowy              | +                    |    |   |    |   |     |
| 2,6,6-trimetylbicyclo[3.1.1]hept-2-ene      | kamforowy              |                      | +  | + | +  | + | +   |
|                                             |                        | 0                    | 28 |   |    |   |     |
|                                             |                        | FM                   | E  | Z | EZ | C | PVC |
| 3,7-dimetylo-2,6-oktadienal                 | cytrusowy              | +                    |    |   |    |   |     |
| 2-metylopropanal                            | spalony                | +                    |    |   |    |   |     |
| 6-dekanal                                   | zielony                | +                    |    |   |    |   |     |
| butanal                                     | czekoladowy            |                      |    |   |    |   |     |
| 1-propanol                                  | alkoholowy             |                      | +  | + | +  | + | +   |
| nonan-3-ol                                  | ziołowy                | +                    |    |   |    |   |     |

|                                             |            |   |   |   |   |   |   |   |
|---------------------------------------------|------------|---|---|---|---|---|---|---|
| 4-metyloheksan-1-ol                         | trawiasty  | + |   |   |   |   |   |   |
| butan-1-ol                                  | cheese     |   |   |   |   |   |   |   |
| propan-1,2-diol                             | karmelowy  |   |   | + | + |   |   |   |
| 2-metyl-5-prop-1-en-2-yl-cyclohex-2-en-1-ol | kminkowy   | + | + |   |   |   | + | + |
| kwask 2,4-heksadienoinowy                   | kwasowy    |   |   |   |   |   |   |   |
| kwask mrówkowy                              | kwasowy    |   |   | + |   |   |   |   |
| kwask pentanowy                             | wołowinowy |   | + |   |   |   |   |   |
| decan-2-one                                 | cytrusowy  |   |   |   |   |   |   |   |
| butan-2,3-dion                              | masłowy    |   | + | + | + | + | + | + |
| trójchloroetan                              | słodki     |   | + |   |   |   |   |   |
| nonane                                      | alkanowy   | + |   |   |   |   |   |   |
| 2,3-dimetoksyfenol                          | ziołowy    |   |   | + | + |   |   | + |
| 2-metylofuran                               | spalony    | + |   |   |   |   |   |   |
| propanian metylu                            | eteryczny  |   |   |   |   |   |   |   |
| 1-metylo-4-propan-2-yl-cyclohex-1,4-diene   | cytrusowy  | + | + |   |   |   |   |   |
| 2,6,6-trimetylbicyclo[3.1.1]hept-2-ene      | kamforowy  |   | + | + | + | + | + | + |

---

## 5.2 Etap II -hydrożelowa emulsja z kapsułkowanym ekstraktem z acai oraz olejem, jako nowy zamiennik tłuszczu zwierzęcego w burgerach wołowych

W etapie II poddano analizie wpływ ekstraktu z jagód acai z kapsułkowanym olejem z krokosza w hydrożelowej emulsji na cechy fizykochemiczne burgerów wołowych.

### Wpływ kapsułkowanego oleju z krokosza na cechy fizyczne hydrożelowej emulsji

Wartości parametrów tekstury hydrożeli o stężeniu oleju krokoszowego 29%-48% oraz kontroli bez udziału oleju 0% przedstawia tab. 6.

Tab. 6. Wpływ zawartości oleju na parametry tekstury hydrożelu.

| Zawartość oleju [%] | Jędrność[N]             | Smarowność [N*s]         | Lepkość [N]              | Adhezyjność [N*s]        |
|---------------------|-------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
| 0                   | 5,65±0,34 <sup>A</sup>  | 4,81±0,39 <sup>A</sup>   | -3,38±0,21 <sup>D</sup>  | -1,02±0,04 <sup>E</sup>  |
| 29                  | 10,15±0,44 <sup>C</sup> | 9,41±0,55 <sup>CD</sup>  | -6,01±0,59 <sup>C</sup>  | -2,10±0,25 <sup>BC</sup> |
| 33                  | 11,17±0,69 <sup>D</sup> | 10,37±1,02 <sup>DE</sup> | -7,03±0,56 <sup>B</sup>  | -2,42±0,29 <sup>B</sup>  |
| 38                  | 11,91±0,43 <sup>D</sup> | 11,22±0,61 <sup>E</sup>  | -8,03±0,30 <sup>A</sup>  | -2,45±0,32 <sup>A</sup>  |
| 42                  | 10,20±1,03 <sup>C</sup> | 9,17±1,04 <sup>C</sup>   | -7,10±0,69 <sup>B</sup>  | -1,90±0,35 <sup>CD</sup> |
| 45                  | 9,31±0,61 <sup>BC</sup> | 8,66±0,90 <sup>BC</sup>  | -6,61±0,24 <sup>BC</sup> | -1,87±0,41 <sup>CD</sup> |
| 48                  | 8,89±1,16 <sup>B</sup>  | 8,07±1,10 <sup>B</sup>   | -6,37±0,82 <sup>C</sup>  | -1,47±0,66 <sup>D</sup>  |

<sup>A-D</sup> średnie wartości między wariantami w tym samym dniu przechowywania, z różnymi literami oznaczają znaczącą różnicę

Wartości parametru jędrności wynosiły od 5,65 [N] do 11,91 [N]. Zawartość 29%, 33% oraz 38% kapsułkowanego oleju w żelu skutkowało statystycznie istotnym wzrostem jędrności, podobna tendencja była obserwowana w przypadku parametru smarowności, dla którego najwyższa wartość wynosiła 11,22 [N\*s]. Parametry lepkość oraz adhezyjność wraz ze wzrostem zawartości oleju do poziomu 38% zmniejszały się, natomiast udział oleju na poziomie 42%, 45% oraz 48% spowodował wzrost tych parametrów ( $p < 0,05$ ). Z przeprowadzonej analizy wynika, że zastosowane zawartości wpływają na parametry tekstury hydrożelu (Zetzi i Marangoni 2014, Frolova i wsp., 2021).

Wyniki analizy parametrów reologicznych hydrożeli z zawartością kapsułkowanego oleju z krokosza przedstawia tab. 7. Wszystkie analizowane próbki zachowywały się jak nienewtonowskie, pseudoplastyczne ciecze. Na podstawie modelu Ostwalda-de Waele dopasowanego do górnych krzywych płynięcia oraz uzyskanych wartości  $n$  stwierdzono, że zastosowanie oleju do żelu powoduje statystycznie istotny wzrost pseudoplastyczności. Obecność oleju spowodowała wzrost naprężeń ścinających, które charakteryzowały się

większym oporem ścinania. Potwierdza to statystycznie istotny wzrost wartości współczynnika konsystencji (K). Największą wartość parametru K odnotowano dla próbki z udziałem 38% oleju, tj. 139,42 [Pa\*s<sup>n</sup>]. Dalsze zwiększanie stężeń oleju w hydrożelowej emulsji powodowało obniżenie tego parametru. Podobną tendencję zaobserwowano w przypadku parametru tiksotropii. Wyniki badań Cano i wsp., (2017) wykazały również, że wzrost zawartości fazy lipidowej w emulsji powoduje wzrost parametru K.

Tab. 7. Parametry modelu reologicznego Ostwald-de Waele oraz pola powierzchni pętli histerezy hydrożelu z kapsułkowanym olejem z krokosza barwierskiego.

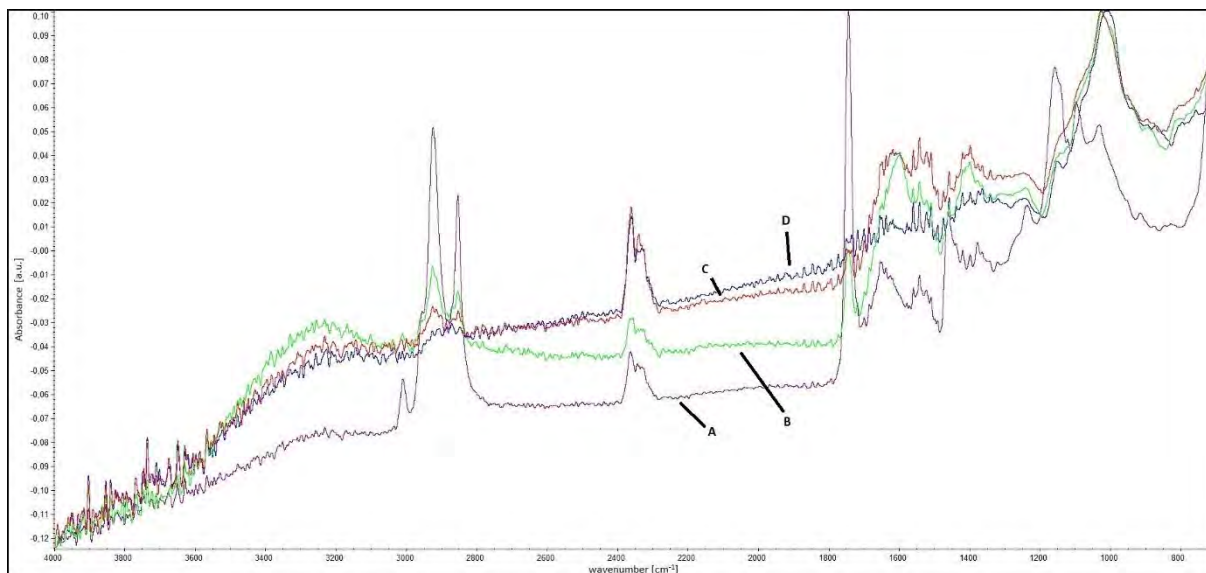
| Stężenie oleju [%] | Model Ostwald-de Waele    |                         |                | powierzchnia pętli histerezy [Pa×s] |                                |
|--------------------|---------------------------|-------------------------|----------------|-------------------------------------|--------------------------------|
|                    | K [Pa*s <sup>n</sup> ]    | n [-]                   | R <sup>2</sup> | tiksotropia                         | powierzchnia                   |
| 0-C                | 53,51±2,18 <sup>A</sup>   | 0,34±0,02 <sup>D</sup>  | 0,98±0,01      | 1157,33±52,45 <sup>A</sup>          | 26801,67±1615,65 <sup>A</sup>  |
| 29                 | 117,05±2,33 <sup>BC</sup> | 0,25±0,02 <sup>AB</sup> | 0,97±0,02      | 3566,67±76,48 <sup>B</sup>          | 41850,00±1800,13 <sup>BC</sup> |
| 33                 | 125,92±1,79 <sup>E</sup>  | 0,24±0,04 <sup>AB</sup> | 0,97±0,01      | 4516,00±124,61 <sup>E</sup>         | 44446,67±2536,03 <sup>BC</sup> |
| 38                 | 139,42±0,67 <sup>F</sup>  | 0,24±0,02 <sup>AB</sup> | 0,98±0,01      | 4562,83±167,84 <sup>E</sup>         | 53178,33±3242,89 <sup>D</sup>  |
| 42                 | 122,05±2,19 <sup>C</sup>  | 0,21±0,03 <sup>A</sup>  | 0,98±0,01      | 4223,83±109,58 <sup>D</sup>         | 45855,00±1596,82 <sup>C</sup>  |
| 45                 | 120,57±2,11 <sup>CD</sup> | 0,23±0,02 <sup>AB</sup> | 0,97±0,01      | 3980,50±89,72 <sup>C</sup>          | 42505,00±2921,69 <sup>BC</sup> |
| 48                 | 114,95±2,83 <sup>B</sup>  | 0,26±0,01 <sup>C</sup>  | 0,98±0,01      | 3413,67±93,66 <sup>B</sup>          | 40705,00±2564,98 <sup>B</sup>  |

<sup>A-D</sup> średnie wartości między wariantami w tym samym dniu przechowywania, z różnymi literami oznaczają znaczącą różnicę

### Analiza metodą spektroskopii w podczerwieni z transformacją Fouriera (FT-IR)

Rys. 9 przedstawia widma FT-IR analizowanych hydrożeli z kapsułkowanym olejem krokoszowym. W widmach absorpcyjnych wykonanych dla próbek 45% oraz 0% można zauważyć pasma absorpcyjne charakterystyczne dla olejów. Na wykresie obserwujemy drgania odpowiadające grupie metylowej w zakresie od 1350 do 1150 cm<sup>-1</sup>. Są to drgania walencyjne odpowiadające C-H w grupach CH<sub>3</sub>. Drgania rozciągające wiązania C-O należące do estrów składają się z dwóch sprzężonych drgań asymetrycznych C-C(=O)-O i O-C-C występują w rejonie pomiędzy 1300–1000 cm<sup>-1</sup>. Pasma pochodzące od drgań C-C(=O)-O nasyconych estrów są widoczne w zakresie 1240–1163 cm<sup>-1</sup>, a w estrach nienasyconych drgania są widoczne przy niższych liczbach falowych. Pasma drgań wiązania O-C-C, które pochodzi od estrów pierwszorzędowych alkoholi, pojawia się w rejonie 1064–1031 cm<sup>-1</sup>, a od estrów pochodzących od drugorzędowych alkoholi przy 1100 cm<sup>-1</sup>. Oba rodzaje estrów występują w cząsteczkach triacylogliceroli (Hourant i wsp., 2000). Pasma o małej intensywności przy 1390 cm<sup>-1</sup> pochodzi od drgań kombinacyjnych C-H. Pasma przy 1726 cm<sup>-1</sup> i 1760 cm<sup>-1</sup> pochodzą od pierwszego nadtonu drgań rozciągających C-H grup metylowej, metylenowej i etylenowej. Dla kwasu oleinowego obserwuje się pasmo przy 1725 cm<sup>-1</sup>, natomiast nasycone

i transnienasycone triacyloglicerole wykazują pasma absorpcji z maksimum przy  $1725\text{ cm}^{-1}$  i  $1760\text{ cm}^{-1}$ . Charakterystyczne pasmo przy  $2145\text{ cm}^{-1}$  pochodzi od drgań rozciągających C–C i C–H. Następnie kilka wibracji z maksimum przy ok.  $2952$ ,  $2921$  i  $2855\text{ cm}^{-1}$  pochodzą z wibracji walencyjnych –C–H odpowiednio z grup –CH<sub>3</sub>, CH<sub>2</sub> w triglicerydach (Rohman i wsp., 2014). Widma FT-IR wykonano na wysuszonych żelach (otrzymano folie). Otrzymane wyniki wskazują, iż proces kapsułkowania nie wpłynął na strukturę oleju.

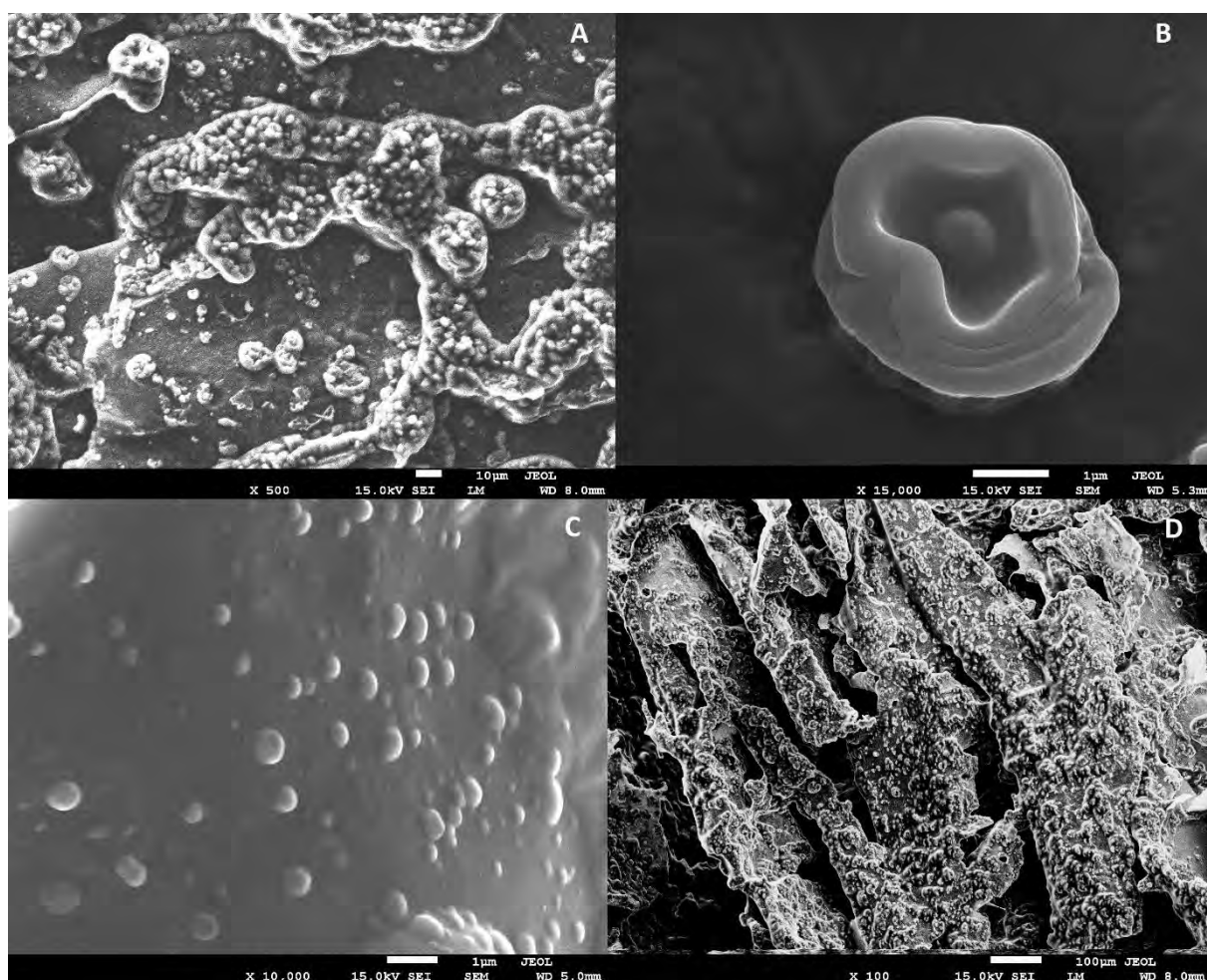


Rys. 9. Analiza FT-IR hydrożeli z kapsułkowanym olejem krokoszowym (hydrożel emulsyjny z 45% oleju (A), hydrożel emulsyjny z 29% oleju (B), hydrożel emulsyjny na bazie mąki koniak i alginianu sodu z mąką lnianą (C), hydrożel emulsyjny na bazie mąki koniak (D)).

### Analiza metodą skaningowego mikroskopu elektronowego (SEM)

Zdjęcia wykonane elektronowym mikroskopem skaningowym SEM zostały przedstawione na rys. 7. Zdjęcia wskazują na to iż z powodzeniem otrzymano nanokapsułki w matrycy polisacharydowej. Wielkość oraz kształt kapsulek różniły się w zależności od stężenia oleju. Z przeprowadzonej analizy zdjęć wynika, że w próbkach 29% oraz 33% otoczka kapsulek jest wielowarstwowa (rys. 10A, 10B). Wielkość kapsulek zmniejszała się, wraz z wzrostem stężenia oleju w matrycy polisacharydowej (rys. 10C, 10D). Kapsułki w hydrożelowej emulsji są obecne w całej matrycy oraz ich rozłożenie jest równomierne.

Analizując uzyskane wyniki hydrożelowej emulsji z kapsułkowanym olejem do dalszych badań wybrano stężenie 45%.



Rys. 10. Analiza SEM hydrożeli z kapsułkowanym olejem: (A- 500x, B-15000x) stężenie 29%; (C- 10000x, D- 100x) stężenie w zakresie 45%.

### **Analiza biochemiczna oleju oraz ekstraktu z acai**

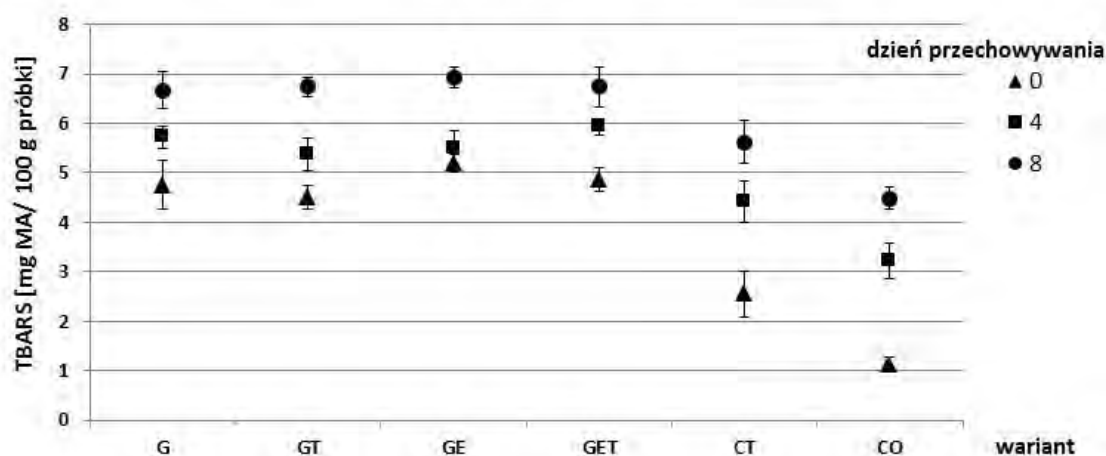
Wyniki analizy TPC oraz aktywności antyoksydacyjnej oleju oraz ekstraktu z acai zostały przedstawione w tab. 8. Stężenie ekstraktu zastosowanego w doświadczeniu głównym zostało wybrane na podstawie badań przeprowadzonych przez Mokhtar i wsp., (2020). Olej z krokosza charakteryzował się zawartością 0,27 mg kwasu gallusowego/g oleju, natomiast aktywność antyoksydacyjna wynosiła 0,09 mg kwasu askorbinowego/g oleju dla analizy ABTS oraz 0,32 mg kwasu askorbinowego/g oleju dla analizy FRAP. Podobne wyniki, w swojej pracy otrzymali Nimrouzi i wsp., (2020). Natomiast olej z krokosza charakteryzował się niską zawartością SFA a bardzo wysoką PUFA (Rutkowska i wsp., 2016).

Tab. 8. Charakterystyka ekstraktu z açaí oraz oleju krokoszewego.

|                                             | Olej z krokosza | Ekstrakt z açaí |
|---------------------------------------------|-----------------|-----------------|
| TPC [mg kwasu galusowego/g próbki]          | 0,27±0,011      | 31,36±1,220     |
| ABTS[mg kwasu askorbinowego / g of próbki]  | 0,09±0,003      | 50,54±0,296     |
| FRAP [mg kwasu askorbinowego / g of próbki] | 0,32±0,004      | 38,05±1,268     |
| Profil kwasów tłuszczowych oleju z krokosza |                 |                 |
| SFA                                         | 10,88±1,36      |                 |
| MUFA                                        | 9,74±1,13       |                 |
| PUFA                                        | 79,19±0,95      |                 |
| n6                                          | 78,91±0,98      |                 |
| n3                                          | 0,15±0,02       |                 |

### Analiza oksydacji lipidów TBARS

Powszechnie stosowanym wskaźnikiem jęlczenia oksydacyjnego lipidów jest analiza TBARS, która określa ilość produktów wtórnego utleniania w mięsie. Analiza peroksydacji lipidów w burgerach w 0, 4 oraz 8 dniu przechowywania przedstawia rys. 10.



Rys.10. Analiza oksydacji lipidów (TBARS) w burgerach z hydrożelową emulsją z kapsułkowanym olejem w 0,4 oraz 8 dniu przechowywania, G –hydrożel z kapsułkami oleju, GT - hydrożel z kapsułkami oleju + 5 g łożu, GE – hydrożel z kapsułkami oleju + ekstrakt z açaí, GET – hydrożel z kapsułkami oleju + ekstrakt z açaí + 5 g łożu, CT –kontrola -20 g łożu, CO – kontrola – 8 g oleju.

Otrzymane wyniki w zależności od dnia przechowywania oraz wariantu mieściły się w zakresie od 1,14 do 6,92 mg MA/100 g próbki. W dniu zerowym w zależności od zastosowanego wariantu, wartość oksydacji lipidów wynosiły od 1,14 (CO) do 5,2 mg MA/



100 g próbki (GE) co wskazuje, że zastosowany zamiennik tłuszczu w formie hydrożelu z kapsułkowanym olejem oraz mąką lnianą charakteryzował się wyższą wartością TBARS w porównaniu do kontroli (CT, CO). Analizując wyniki można przypuszczać, że wzrost ten jest spowodowany obecnością mąki lnianej, która zawiera wysokie wartości wielonienasyconych kwasów tłuszczowych (PUFA) (Goyal i wsp., 2014). Zastosowana odtłuszczona mąka lniana posiadała 10 g/ 100 g tłuszczu, a proces produkcyjny mąki z nasion, mógł wpłynąć na generowanie wolnych rodników, aldehydów i ketonów poprzez narażenie PUFA na działanie światła, ciepła oraz tlenu. Badania przeprowadzone przez Hautrive i wsp., (2018), potwierdzają, że udział odtłuszczonej mąki lnianej generuje wyższe wartości TBARS w porównaniu do kontroli. Ponadto, z uzyskanych wyników można zauważyć, że wraz z czasem przechowywania pomiędzy 0 a 4 dniem największy wzrost oksydacji lipidów (1,85-2,08) był obserwowany w kontroli z łożem (CT) oraz olejem (CO). Wynik ten wskazuje, że zastosowany zamiennik tłuszczu w postaci hydrożelowej emulsji (mąka koniak oraz alginian sodu) z kapsułkowanym olejem oraz mąką lnianą (G, GT, GE, GET) wykazuje pozytywny wpływ na spowolnienie peroksydacji tłuszczów. Tak więc strukturyzacja tłuszczu znacząco obniżyła wartość TBARS ( $p < 0,05$ ) w porównaniu do produktu zawierającego tłuszcz zwierzęcy lub roślinny (Alejandre i wsp., 2019). Odnosząc się do przeprowadzonych badań można również zauważyć, że wraz z czasem przechowywania wartość MA wzrasta, bez względu na rodzaj wariantu. W efekcie utlenianie lipidów przyczynia się do rozwoju procesu jęłczenia, jednocześnie powodując obniżenie jakości produktów mięsnych w trakcie przechowywania (Jin i wsp., 2018). Wartość progowa świadcząca o utracie jakości sensorycznej żywności wynosi  $> 1,0$  mg malondehydu/ kg burgerów (Rather i wsp., 2016). W przeprowadzonych badaniach, pomimo obserwowanego wzrostu oksydacji tłuszczu, wszystkie otrzymane wartości są poniżej wartości progowej.

### **Analiza barwy oraz pH**

Parametr pH mięsa może wpływać na trwałość jego cech takich jak barwa, smak, zapach, kruchość jak i na wartość odżywczą. Analiza parametru pH mięsa została przeprowadzona na burgerach surowych po określonym czasie przechowywania (0, 4 8 dni), uzyskane wyniki zostały przedstawione w tab. 9. Otrzymane wartości w zależności od wariantu oraz czasu przechowywania mieściły się w granicy od 5,56 do 5,81. Obecność hydrożeli oraz mąki lnianej przyczynił się do wzrostu pH w dniu 0, w porównaniu do kontroli (CT, CO). Efekt ten mógł być spowodowany obecnością błonnika, jakim była mąka lniana.

Tab. 9. Efekt zamiennika tłuszczu w postaci hydrożelu z kapsułkowanym ekstraktem z acai oraz olejem z krokosza i maki lnianej na parametry barwy oraz pH w burgerach surowych oraz grillowanych po 0, 4 oraz 8 dniu przechowywania, G –hydrożel z kapsułkami oleju, GT - hydrożel z kapsułkami oleju + 5 g łożu, GE – hydrożel z kapsułkami oleju + ekstrakt z acai, GET – hydrożel z kapsułkami oleju + ekstrakt z acai + 5 g łożu, CT –kontrola - 20 g łożu, CO – kontrola – 8 g oleju.

| wariant    | dzień<br>przechowywania | surowy                    |                          |                          |                        |
|------------|-------------------------|---------------------------|--------------------------|--------------------------|------------------------|
|            |                         | L*[%]                     | a*[-]                    | b*[-]                    | pH                     |
| G          | 0                       | 44,5±2,85 <sup>BCb</sup>  | 22,6±2,36 <sup>B</sup>   | 14,7±1,52 <sup>ABb</sup> | 5,70±0,04 <sup>C</sup> |
| GT         |                         | 46,2±3,06 <sup>Ab</sup>   | 22,7±2,80 <sup>B</sup>   | 15,2±1,52 <sup>Ab</sup>  | 5,71±0,04 <sup>C</sup> |
| GE         |                         | 45,0±3,25 <sup>ABab</sup> | 21,9±1,93 <sup>B</sup>   | 14,7±2,01 <sup>ABb</sup> | 5,72±0,03 <sup>C</sup> |
| GET        |                         | 43,2±3,02 <sup>CDc</sup>  | 22,8±2,20 <sup>Bb</sup>  | 14,0±1,50 <sup>Ba</sup>  | 5,71±0,05 <sup>C</sup> |
| CT         |                         | 42,0±2,66 <sup>DEb</sup>  | 24,1±1,81 <sup>Aa</sup>  | 11,5±0,97 <sup>C</sup>   | 5,64±0,04 <sup>A</sup> |
| CO         |                         | 40,4±2,40 <sup>Eb</sup>   | 22,0±1,61 <sup>Ba</sup>  | 10,4±0,86 <sup>D</sup>   | 5,56±0,04 <sup>B</sup> |
| G          | 4                       | 44,2±3,13 <sup>Ab</sup>   | 22,3±1,87 <sup>A</sup>   | 14,7±1,31 <sup>Ab</sup>  | 5,81±0,06 <sup>C</sup> |
| GT         |                         | 45,3±4,24 <sup>Ab</sup>   | 22,3±2,45 <sup>A</sup>   | 14,6±1,9 <sup>Ab</sup>   | 5,77±0,03 <sup>C</sup> |
| GE         |                         | 43,7±3,85 <sup>Ab</sup>   | 21,6±2,09 <sup>AB</sup>  | 14,0±1,5 <sup>Ab</sup>   | 5,76±0,05 <sup>C</sup> |
| GET        |                         | 44,9±3,78 <sup>Ab</sup>   | 21,8±2,32 <sup>ABa</sup> | 14,4±1,52 <sup>Aab</sup> | 5,76±0,05 <sup>C</sup> |
| CT         |                         | 41,4±3,64 <sup>Bb</sup>   | 22,8±2,29 <sup>Ab</sup>  | 11,0±1,42 <sup>B</sup>   | 5,63±0,09 <sup>A</sup> |
| CO         |                         | 41,0±3,06 <sup>Bb</sup>   | 20,8±1,68 <sup>Bb</sup>  | 10,2±1,11 <sup>C</sup>   | 5,57±0,07 <sup>B</sup> |
| G          | 8                       | 46,9±3,16 <sup>a</sup>    | 22,7±2,18 <sup>A</sup>   | 16,3±1,51 <sup>Aa</sup>  | 5,73±0,04 <sup>B</sup> |
| GT         |                         | 48,6±3,55 <sup>a</sup>    | 21,1±2,47 <sup>A</sup>   | 16,6±1,45 <sup>Aa</sup>  | 5,73±0,03 <sup>B</sup> |
| GE         |                         | 46,9±3,02 <sup>a</sup>    | 21,1±1,15 <sup>A</sup>   | 16,0±1,51 <sup>Aa</sup>  | 5,75±0,01 <sup>B</sup> |
| GET        |                         | 47,5±4,00 <sup>a</sup>    | 20,9±2,54 <sup>Aac</sup> | 15,4±1,69 <sup>Ab</sup>  | 5,75±0,03 <sup>B</sup> |
| CT         |                         | 46,9±6,54 <sup>a</sup>    | 18,5±2,94 <sup>Bb</sup>  | 10,9±1,76 <sup>B</sup>   | 5,58±0,03 <sup>A</sup> |
| CO         |                         | 44,9±5,44 <sup>a</sup>    | 18,6±2,03 <sup>Bc</sup>  | 10,8±1,51 <sup>B</sup>   | 5,58±0,03 <sup>A</sup> |
| grillowany |                         |                           |                          |                          |                        |
|            |                         | L*[%]                     | a*[-]                    | b*[-]                    |                        |
| G          | 0                       | 52,2±1,68 <sup>A</sup>    | 7,4±0,75 <sup>ABab</sup> | 13,5±0,395 <sup>A</sup>  |                        |
| GT         |                         | 52,7±1,71 <sup>A</sup>    | 7,0±0,40 <sup>Aa</sup>   | 13,7±1,25 <sup>A</sup>   |                        |
| GE         |                         | 51,4±1,92 <sup>Aa</sup>   | 7,3±0,81 <sup>ABa</sup>  | 12,6±1,47 <sup>Aa</sup>  |                        |
| GET        |                         | 52,7±1,38 <sup>Aa</sup>   | 7,3±0,56 <sup>ABa</sup>  | 13,5±1,32 <sup>A</sup>   |                        |
| CT         |                         | 51,6±2,25 <sup>A</sup>    | 7,7±1,00 <sup>Ba</sup>   | 10,0±0,88 <sup>Ba</sup>  |                        |
| CO         |                         | 49,1±2,37 <sup>Ba</sup>   | 7,9±0,66 <sup>B</sup>    | 9,8±0,62 <sup>Ba</sup>   |                        |
| G          | 4                       | 52,5±1,61                 | 7,0±0,41 <sup>ACb</sup>  | 13,0±0,84 <sup>A</sup>   |                        |
| GT         |                         | 52,3±2,378                | 7,3±0,45 <sup>Ab</sup>   | 13,7±1,30 <sup>A</sup>   |                        |
| GE         |                         | 53,9±1,81 <sup>b</sup>    | 6,7±0,35 <sup>CDbc</sup> | 13,7±1,16 <sup>Ab</sup>  |                        |
| GET        |                         | 53,3±1,85 <sup>a</sup>    | 6,2±0,50 <sup>Db</sup>   | 13,9±0,62 <sup>A</sup>   |                        |
| CT         |                         | 53,1±2,04                 | 7,1±0,45 <sup>ACb</sup>  | 9,6±1,04 <sup>Ba</sup>   |                        |
| CO         |                         | 51,0±1,44 <sup>b</sup>    | 7,8±0,23 <sup>B</sup>    | 9,4±0,55 <sup>Bbc</sup>  |                        |
| G          | 8                       | 51,4±4,93 <sup>A</sup>    | 10,7±5,29 <sup>Aa</sup>  | 12,7±1,73 <sup>A</sup>   |                        |
| GT         |                         | 52,7±2,38 <sup>A</sup>    | 7,7±0,72 <sup>Ab</sup>   | 13,6±1,10 <sup>A</sup>   |                        |
| GE         |                         | 48,6±4,44 <sup>BCa</sup>  | 6,8±0,59 <sup>Bac</sup>  | 13,5±1,14 <sup>Ab</sup>  |                        |
| GET        |                         | 51,0±2,12 <sup>ACb</sup>  | 7,0±0,56 <sup>Ba</sup>   | 13,7±0,85 <sup>A</sup>   |                        |
| CT         |                         | 52,2±1,40 <sup>A</sup>    | 8,1±0,63 <sup>Aa</sup>   | 9,0±0,80 <sup>Bb</sup>   |                        |
| CO         |                         | 47,6±1,64 <sup>Bc</sup>   | 8,0±0,37 <sup>A</sup>    | 9,6±0,70 <sup>Bac</sup>  |                        |

A-D średnie wartości między wariantami w tym samym dniu przechowywania, z różnymi literami oznaczają znaczącą różnicę, <sup>a-c</sup> średnie wartości pomiędzy wariantami w tym samym dniu przechowywania, różne litery oznaczają istotną różnicę

W badaniach przeprowadzonych przez Hautrive i wsp., (2018) zaobserwowano wyższe pH w modyfikowanych burgerach z udziałem błonnika niż w kontroli. W przeprowadzonych badaniach zauważyć można, że zastosowanie łożu zwiększa pH burgerów w porównaniu do zastosowania oleju z krokosza (odpowiednio 5,64; 5,56  $p < 0,05$ ). Obserwowany wzrost w 4 dniu przechowywania zwłaszcza w wariantach G, GT, GE, GET może być spowodowany akumulacją lotnych zasad takich jak trimetyloamina oraz amoniak, które powstają podczas hydrolizy białek i degradacji aminokwasów przez enzymy endogenne lub mikroorganizmy (Ghaderi-Ghahfarokhi i wsp., 2016).

Wpływ hydrożelu z kapsulowanym olejem krokoszowym i mąką lnianą na parametry pH i barwy grillowanych i surowych burgeryów w 0, 4 i 8 dniu przechowywania przedstawia tab. 9. Parametr mięsa jakim jest barwa w zdecydowanym stopniu może wpływać na skłonność konsumenta do zakupu produktu, przy wyższej akceptowalności produktów jaskrawoczerwonych. Na parametry barwy istotny wpływ miał czas przechowywania i składniki receptury. Wartości parametru  $L^*$  w burgeryówch surowych, wzrastały wraz ze wzrostem czasu przechowywania bez względu na rodzaj zastosowanego wariantu doświadczalnego. Podobną tendencję w swoich badaniach obserwowali Carvalho i wsp., (2019). Aczkolwiek porównując parametr barwy  $L^*$  w dniu 4 warianty kontrolne (CT, CO) charakteryzowały się niższą wartością ( $p < 0,05$ ) niż warianty doświadczalne (G, GT, GE, GET). Podobną tendencję można zaobserwować analizując parametry  $a^*$  oraz  $b^*$  zarówno w dniu 4 jak i 8. Przeprowadzone badania wykazały również, że udział ekstraktu z acai (GE, GET) nie wpłynął istotnie na parametry składowe barwy, bez względu na czas przechowywania. Zastąpienie tłuszczu zwierzęcego mikrokapsułkowanym olejem oraz mąką lnianą przyczyniło się do uzyskania lepszych parametrów barwy burgerów surowych w 4 oraz 8 dniu przechowywania. Przeprowadzona analiza barwy w burgerów grillowanych, po określonym dniu przechowywania, wykazała brak statystycznych różnic pomiędzy stosowanymi wariantami. Podczas grillowania barwa mięsa ulega zmianie na skutek wywołanej wysoką temperaturą denaturacji mioglobiny. Rola rodzaju tłuszczu w grillowanym burgerze nie jest do końca poznana, ale powinien on mieć mniejszy wpływ na barwę niż pozostałe parametry takie jak np. warunki przechowywania czy pH (Summo i wsp., 2020).

## Analiza profilu tekstury (TPA)

Zmiany tekstury (żujność, sprężystość, twardość), które zachodzą w produktach mięsnych w wyniku zamiany tłuszczu zwierzęcego tłuszczami roślinnymi, stają się ważnym wyzwaniem dla badaczy, zwłaszcza ze względu na jego znaczenie w atrybutach sensorycznych. Analiza TPA burgeryów grillowanych przedstawia tab. 10. Wartość analizowanego parametru tekstury-twardość w przeprowadzonym doświadczeniu bez względu na zastosowany wariant oraz czas przechowywania była istotnie statystycznie ( $p < 0,05$ ) niższa (5,3-15,0 [N]) w porównaniu do próbek kontrolnych (24,8-90,9 [N]). Tendencję tą potwierdzają badania przeprowadzone przez Afshari i wsp (2017) gdzie zamiennik tłuszczu stanowiła emulsja z białek sojowych, inuliny,  $\beta$ -glukanu oraz oleju rzepakowego i oliwy z oliwek. Podobne badania przeprowadzone przez Lucas-González i wsp., (2019), w których zamiennik tłuszczu (żel emulsyjny z mąki kasztanowej oraz olej chia), wykazują, że wraz ze wzrostem stopnia zastąpienia tłuszczu, parametry tekstury osiągały wartości niższe niż próbki kontrolne. Jednakże, badania przeprowadzone przez Moghtadaei i wsp., (2021) gdzie hydrożel (olej sezamowy, etyloceluloza) jako zamiennik tłuszczu w burgerze wywołał odwrotny efekt w porównaniu do przeprowadzonych badań. Z analizy literatury wynika wiele sprzecznych doniesień dotyczących wpływu zastosowanego rodzaju hydrożelu na parametry tekstury grillowanych burgeryów. Różnice te mogą być efektem czynników takich jak metoda inkorporacji oleju roślinnego do produktu, stężenie oraz rodzaj zastosowanego hydrożelu (Vargas-Ramella i wsp., 2020). Grilowane burgery (G, GT, GE, GET) charakteryzowały się niższymi wartościami twardości niż w przypadku próbek CT, CO. Zgodnie z oczekiwaniami, grillowanie zwiększyło twardość, w próbkach kontrolnych, jest to efekt denaturacji białek, utraty wody oraz tłuszczu.

Tab. 10. Wpływ hydrożelu z kapsułkowanym ekstraktem z acai i olejem krokoszowym i mąką lnianą jako zamiennikiem tłuszczu na parametry tekstury grillowanych burgerów w 0, 4 i 8 dniu przechowywania.

| wariant | Sprężystość [-]        | Żujność [N]              | Spoistość [-]           | Twardość [N]              |
|---------|------------------------|--------------------------|-------------------------|---------------------------|
| G       | 0,4±0,20               | 0,6±0,26 <sup>Bab</sup>  | 0,1±0,04 <sup>Ca</sup>  | 6,4±1,59 <sup>B</sup>     |
| GT      | 0,4±0,11 <sup>a</sup>  | 0,3±0,17 <sup>B</sup>    | 0,0±0,05 <sup>BC</sup>  | 5,3±1,23 <sup>B</sup>     |
| GE      | 0,8±0,30 <sup>a</sup>  | 0,4±0,26 <sup>B</sup>    | 0,1±0,04 <sup>BC</sup>  | 5,5±0,98 <sup>B</sup>     |
| GET     | 0,5±0,2                | 0,5±0,24 <sup>B</sup>    | 0,1±0,10 <sup>BC</sup>  | 5,6±1,53 <sup>B</sup>     |
| CT      | 0,9±0,22               | 10,6±2,30 <sup>Ab</sup>  | 0,4±0,03 <sup>A</sup>   | 27,5±5,25 <sup>Ab</sup>   |
| CO      | 0,5±0,12 <sup>a</sup>  | 8,8±1,50 <sup>Ac</sup>   | 0,4±0,04 <sup>A</sup>   | 24,8±1,95 <sup>Ac</sup>   |
| G       | 0,2±0,05 <sup>C</sup>  | 1,0±0,49 <sup>Ba</sup>   | 0,1±0,03 <sup>Ca</sup>  | 9,5±2,16 <sup>B</sup>     |
| GT      | 0,2±0,03 <sup>Cb</sup> | 0,4±0,59 <sup>B</sup>    | 0,0±0,07 <sup>BC</sup>  | 7,8±2,68 <sup>B</sup>     |
| GE      | 0,1±0,03 <sup>Cb</sup> | 0,5±0,62 <sup>B</sup>    | 0,0±0,07 <sup>BC</sup>  | 7,9±2,46 <sup>B</sup>     |
| GET     | 0,1±0,04 <sup>C</sup>  | 0,0±0,36 <sup>B</sup>    | 0,0±0,09 <sup>BC</sup>  | 5,8±1,20 <sup>B</sup>     |
| CT      | 0,4±0,06 <sup>A</sup>  | 17,1±4,73 <sup>Aab</sup> | 0,4±0,03 <sup>A</sup>   | 47,3±12,23 <sup>Aab</sup> |
| CO      | 0,3±0,04 <sup>Bb</sup> | 21,4±4,25 <sup>Ab</sup>  | 0,4±0,02 <sup>A</sup>   | 58,6±12,04 <sup>Ab</sup>  |
| G       | 0,1±0,03 <sup>C</sup>  | -0,3±0,90 <sup>Cb</sup>  | -0,1±0,14 <sup>Bb</sup> | 10,4±3,34 <sup>C</sup>    |
| GT      | 0,1±0,03 <sup>Cb</sup> | -0,5±0,70 <sup>C</sup>   | -0,1±0,08 <sup>B</sup>  | 10,2±2,51 <sup>C</sup>    |
| GE      | 0,2±0,04 <sup>Cb</sup> | -0,1±0,99 <sup>C</sup>   | 0,0±0,10 <sup>B</sup>   | 11,6±3,93 <sup>C</sup>    |
| GET     | 0,1±0,03 <sup>C</sup>  | 0,5±1,43 <sup>C</sup>    | 0,0±0,12 <sup>B</sup>   | 15,0±7,16 <sup>C</sup>    |
| CT      | 0,5±0,04 <sup>A</sup>  | 19,6±6,80 <sup>Ba</sup>  | 0,3±0,04 <sup>A</sup>   | 58,6±17,54 <sup>Ba</sup>  |
| CO      | 0,3±0,01 <sup>Bb</sup> | 29,1±6,22 <sup>Aa</sup>  | 0,3±0,03 <sup>A</sup>   | 90,9±18,76 <sup>Aa</sup>  |

<sup>A-C</sup> średnie wartości między wariantami w tym samym dniu przechowywania, z różnymi literami oznaczają istotną różnicę

<sup>a-c</sup> średnie wartości w tym samym wariancie w różnych dniach przechowywania, z różnymi literami oznaczają istotną różnicę

Twardość produktów mięsnych jest związana z wielkością cząsteczek tłuszczowych, poprzez stworzenie międzyfazowego filmu białkowego wokół kuleczek tłuszczu przez białka rozpuszczalne w soli (aktyna, miozyna). Występuje wykładnicza zależność pomiędzy wielkością kuleczek tłuszczowych a ilością międzyfazowej warstwy białkowej (Youssef i wsp., 2009, Moghtadaei i wsp., 2018). W przypadku zastosowanych hydrożeli, tłuszcz został kapsułkowany w mieszance polimerów, natomiast w próbach kontrolnych prawdopodobnie doszło do wytworzenia międzyfazowego filmu białkowego, a w konsekwencji procesu grillowania jego denaturacji. Różnica w twardości pomiędzy próbami kontrolnymi, wynikała prawdopodobnie z ilości powstałej międzyfazowej warstwy białkowej, formy zastosowanego tłuszczu (łój wołowy w postaci tkankowej, płynny olej roślinny) oraz jego stabilności termicznej. Wyższa stabilność termiczna zastosowanego hydrożelu, wpłynęła na niższą twardość burgerów w porównaniu z tłuszczem wołowym lub olejem z krokosza barwierskiego.

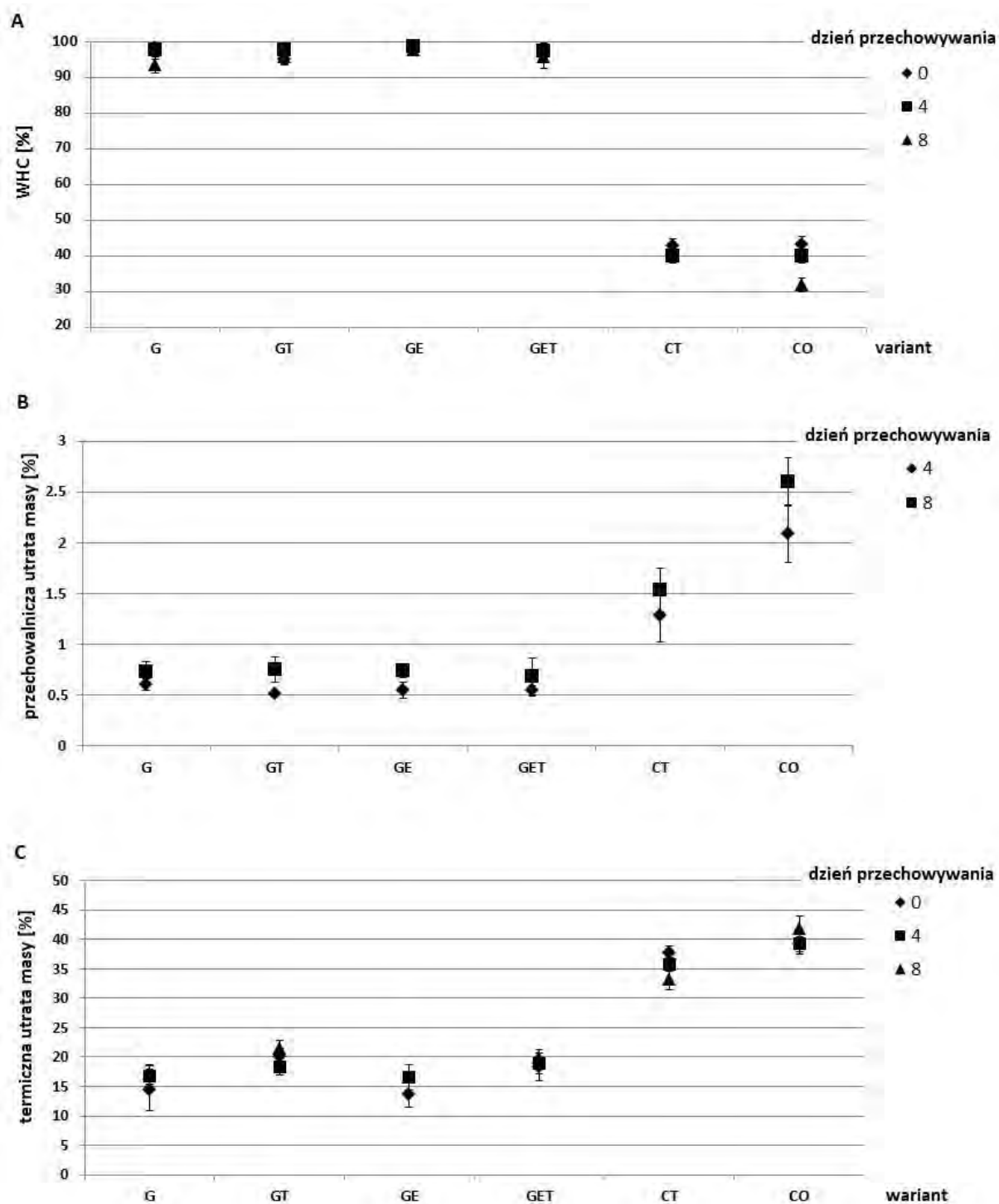
Ponadto, wraz z czasem przechowywania obniżają się wartości parametrów grillowanych burgerów takich jak sprężystość oraz spoistość przy jednoczesnym wzroście wartości parametrów żujności i twardości. Efekt ten jest związany z procesami zachodzącymi w trakcie przechowywania takimi jak np. wyciek naturalny, który w konsekwencji wpływa na parametry tekstury. Z punktu widzenia konsumenta zmniejszenie wartości parametrów takich jak twardość czy żujność może być uznane za cechę korzystną, ze względu na postrzeganie z lepszą jakością mięsa użytego do produkcji burgeryów (Lucas-González i wsp., 2019).

### **Analiza WHC oraz zmiana masy po określonym dniu przechowywania burgerów grillowanych oraz surowych**

Dla przemysłu spożywczego odpowiednie właściwości technologiczne burgerów są związane z zachowaniem masy w trakcie przechowywania oraz grillowania. Utrzymanie wody własnej jest niezwykle istotne gdyż nieodpowiednia retencja wody w produktach mięsnych wpływa nie tylko na zmniejszenie wydajności poprzez utratę masy, ale również powoduje gromadzenie się płynu w opakowaniu, a w konsekwencji zmianę tekstury, barwy i ostatecznie obniżenie akceptacji produktu mięsnego przez konsumenta (Patinho i wsp., 2021). Rys. 10 przedstawia analizę zdolności utrzymania wody własnej, utratę masy burgeryów surowego oraz grillowanego w 0, 4 oraz 8 dniu przechowywania. Wartości tego parametru dla wariantów G, GT, GE, GET bez względu na czas przechowywania mieściły się w zakresie 93,5-98,8 %. Natomiast w przypadku kontroli wartości wynosiły 31,8% - 43,2% w zależności od dnia przechowywania. Przeprowadzone badania wykazały, że zamiennik tłuszczu z udziałem mąki lnianej (G, GT, GE, GET) istotnie zwiększył WHC w porównaniu do kontroli.

Przechowalnicza zmiana masy w przeprowadzonym badaniu, wzrastała wraz z czasem przechowywania, zarówno w burgerach z zamiennikiem tłuszczu, jak i w wariantach kontrolnych. Niemniej jednak warianty G, GT, GE, GET charakteryzowały się dużo niższą zmianą masy (0,5-0,6%) niż CT oraz CO (1,3-2,6%). Zamiennik tłuszczu jakim był hydrożel (mąka koniak, alginian sodu) z kapsułkowanym olejem i mąką lnianą przyczynił się do ograniczenia zmian masy w trakcie przechowywania. Znacząca różnica ( $p < 0,05$ ) pomiędzy kontrolą z łożem a olejem była prawdopodobnie spowodowana formą dodawanego tłuszczu. Podobną tendencję zaobserwowano dla zmiany masy po grillowaniu w 0, 4 oraz 8 dniu przechowywania, w których zamiennik tłuszczu na bazie żelu z mąki koniak oraz alginianu

sodu z udziałem mąki lnianej z kapsułkowanym olejem krokoszowym istotnie statystycznie ( $p < 0,05$ ) zmniejszyły % zmiany masy burgerów.



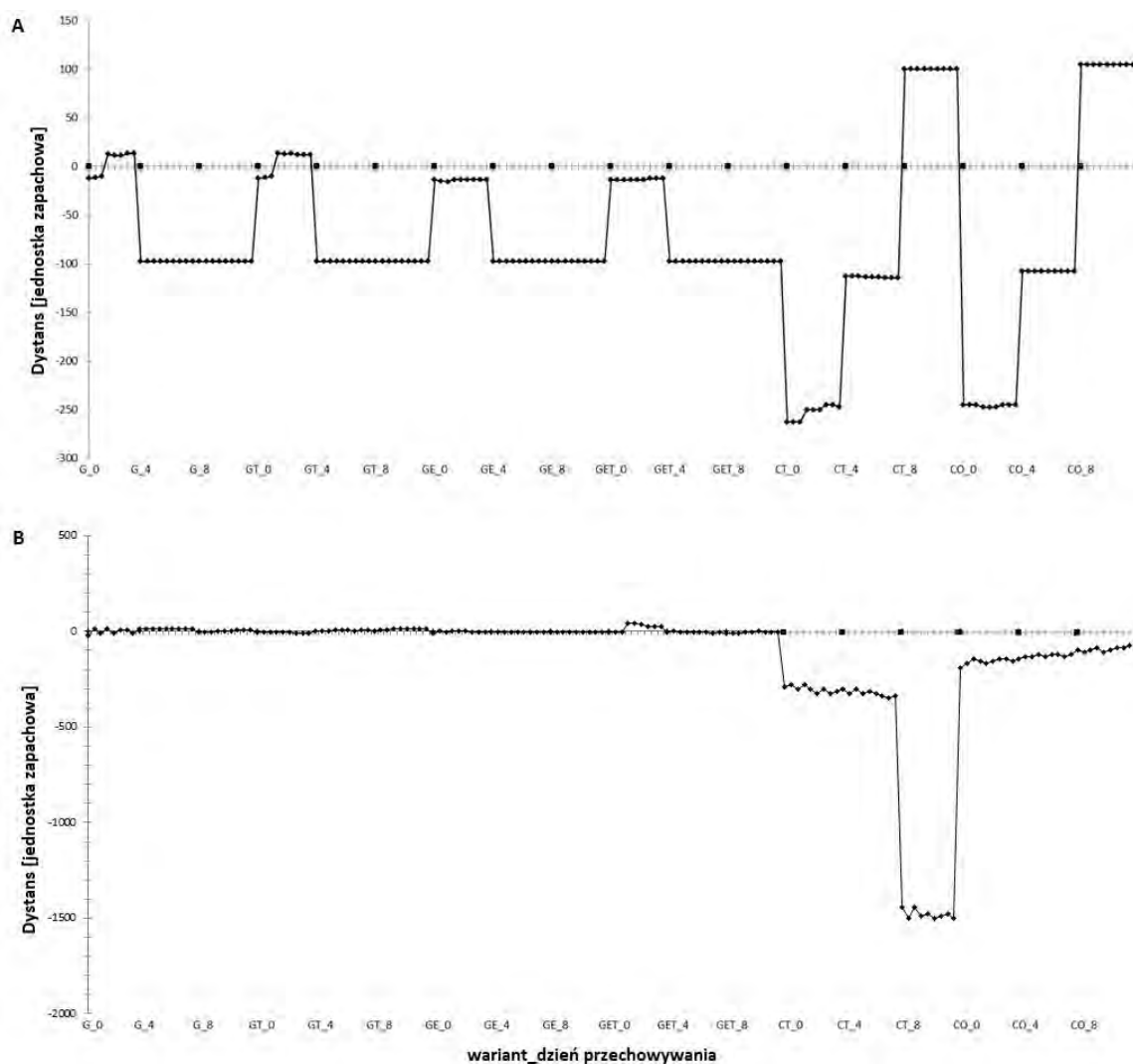
Rys. 10. Wpływ hydrożelowej emulsji z kapsułkowanym ekstraktem z aćai i olejem z krokosza na utrzymanie wody własnej (WHC) (A), oraz zmianę masy po przechowywaniu (B) oraz zmianę masy po obróbce termicznej - grillowaniu (C) w 0, 4 i 8 dniu przechowywania.

Analiza wykazała, że obecność łoju (GT, GET) zwiększyła % zmiany masy burgerów grillowanego, co mogło być spowodowane zmianą konsystencji łoju pod wpływem procesu grillowania.

### **Analiza profilu związków lotnych**

Tłuszcz jest prekursorem wielu związków aromatycznych, ponadto pełni również rolę rozpuszczalnika dla tych związków. Zmiany w ilości, jak i w składzie tłuszczu mogą wpływać na tempo oraz rodzaj procesów zachodzących w trakcie przechowywania burgerów (Domínguez i wsp., 2021). Analiza zmian profilu związków lotnych w burgeryze surowym i grillowanym w 0, 4 oraz 8 dniu przechowywania przedstawia rys. 11. Otrzymane wyniki przedstawiają różnice w profilu związków lotnych pomiędzy zastosowanymi wariantami G, GT oraz GE, GET i CT, CO w dniu zerowym. Analizując otrzymane dane można wnioskować, że obecność ekstraktu wpłynęła na profil zapachowy burgerów surowych poprzez zmniejszenie zmian w profilu związków (rys. 11A), a co za tym idzie spowolnienie zmian zachodzących naturalnie w burgerze w trakcie przechowywania. Zmiany w profilu związków lotnych w burgerach z zamiennikiem tłuszczu w 4 oraz 8 dniu przechowywania utrzymywała się na podobnym poziomie. Odwrotną sytuację zaobserwowano w przypadku burgerów z łojem oraz olejem, gdzie zmiany wzrastały wraz z czasem przechowywania, a proces zmian postępował najszybciej pomiędzy 4 a 8 dniem przechowywania. Natomiast w przypadku burgerów grillowanych (rys 11B) zastosowane warianty nie wykazywały różnic w profilu związków lotnych bez względu na czas przechowywania. Jedynie w dniu 0 w GET widoczna jest niewielka zmiana, która mogła być podyktowana obecnością zarówno ekstraktu jak i łoju. Analiza zmian profilu związków lotnych dla kontroli (CT) diametralnie się zmienia w dniu 8, przyczyną tego stanu rzeczy mogą być postępujące procesy oksydacyjne wysokiej zawartości łoju (20%) zwłaszcza po 4 dniu przechowywania. Natomiast, w przypadku kontroli z olejem z krokosza, zmiany te nie są skokowe lecz liniowe, co może świadczyć o stopniowych zmianach postępujących wraz z czasem przechowywania.





Rys. 11. Zmiana w profilu związków lotnych w burgerach surowych (A) oraz grillowanych (B) w 0, 4 oraz 8 dniu przechowywania ( $4\pm 1^\circ\text{C}$ ) z udziałem hydrożelowej emulsji z kapsułkowanym ekstraktem z acai oraz olejem z krokosza.

Analiza składowych profilu związków lotnych burgerów surowych w 0, 4 oraz 8 dniu przechowywania w wariantach z zamiennikiem tłuszczu (G, GT, GE, GET) oraz kontroli (CT, CO) przedstawia tab. 11 i tab. 12. Analizując uzyskane dane wynika, że wraz z czasem przechowywania wzrastała ilość związków zwłaszcza należących do grup aldehydów, alkoholi, estrów oraz ketonów. Dodatek oleju o zwiększonej ilości nienasyconych kwasów tłuszczowych sprzyja procesom oksydacyjnym mięsa, a w konsekwencji zwiększa zawartość lotnych związków powstających w wyniku utleniania lipidów (Carvalho i wsp., 2019). Lotne związki takie jak alkohole, aldehydy i ketony są głównie odpowiedzialne za obniżenie jakości sensorycznej produktów mięsnych (Heck i wsp., 2019). Badania przeprowadzone przez

Watanabe i wsp., (2015), potwierdzają przedstawione wyniki, że wraz z czasem przechowywania zwiększa się ilość związków lotnych należących do alkoholi. Natomiast alkohole takie jak: 1-hexanol, 1-pentanol oraz 1-okten-3-ol są uważane za kluczowe wskaźniki utlenienia lipidów w mięsie Carvalho i wsp., (2019). Analiza składowych profilu związków lotnych w burgerach grillowanych został zdominowany głównie przez związki należące do grupy aldehydów oraz alkoholi. Pojawiające się związki takie jak benzaldehyd, 3- metylobutanal, 2-metylopropanal, pirazyna czy siarczek dimetylu są typowymi związkami należącymi do reakcji Maillarda, która została zaindukowana procesem termicznym (Gardner i wsp., 2018, He i wsp., 2021). Przeprowadzona analiza wykazała, że oprócz degradacji lipidów oraz reakcji Maillarda zastosowane składniki produktu były czynnikami decydującymi o tworzeniu się lotnych substancji charakterystycznych dla poszczególnych wariantów, np. związki takie jak benzaneacetaldehyde, 1-propanol-2 methyl, pyrazine dla wariantów G, GT, GE, GET, pentan-2-ol dla GE, GET, 2-furanmethanol dla CO oraz dimethyl sulfide dla CT.

Tab. 11. Profil związków lotnych burgerów surowych w 0, 4 oraz 8 dniu przechowywania.

| Związek lotny           | Dzień przechowywania |    |    |     |    |    |   |    |    |     |    |    |   |    |    |     |    |    |
|-------------------------|----------------------|----|----|-----|----|----|---|----|----|-----|----|----|---|----|----|-----|----|----|
|                         | 0                    |    |    |     |    |    | 4 |    |    |     |    |    | 8 |    |    |     |    |    |
|                         | G                    | GT | GE | GET | CT | CO | G | GT | GE | GET | CT | CO | G | GT | GE | GET | CT | CO |
| aldehyd                 |                      |    |    |     |    |    |   |    |    |     |    |    |   |    |    |     |    |    |
| (E,E)-2,4-heksadienal   |                      |    |    |     |    |    | + | +  |    |     |    |    | + | +  |    |     |    |    |
| 2-metylopropanal        | +                    | +  | +  | +   | +  | +  | + | +  | +  | +   | +  |    | + | +  | +  | +   |    |    |
| 3-metylobutanal         |                      |    |    |     |    |    |   |    |    |     |    | +  |   |    |    |     | +  | +  |
| benzaldehyd             |                      |    |    |     |    |    |   |    |    |     |    |    |   |    |    |     |    | +  |
| benzenoacetaldehyd      |                      |    |    |     |    |    | + | +  | +  | +   |    |    | + | +  | +  | +   |    |    |
| propanal                | +                    | +  | +  | +   | +  | +  | + | +  | +  | +   | +  | +  | + | +  | +  | +   | +  | +  |
| alkohol                 |                      |    |    |     |    |    |   |    |    |     |    |    |   |    |    |     |    |    |
| 1-heksanol              |                      |    |    |     |    |    | + | +  | +  | +   | +  | +  | + | +  | +  | +   | +  | +  |
| 1-heksen-3-ol           |                      |    |    |     |    |    |   |    | +  |     |    |    |   |    | +  |     |    |    |
| 1-penten-3-ol           |                      |    |    |     |    |    |   |    |    |     |    |    |   |    |    | +   |    |    |
| 1-propanol              | +                    | +  | +  | +   | +  | +  | + | +  | +  | +   | +  | +  | + | +  | +  | +   | +  | +  |
| 1-propanol, 2-metylo    | +                    | +  | +  |     |    |    | + | +  | +  | +   |    |    | + | +  | +  | +   |    |    |
| e-2-nonen-1-ol          |                      |    |    |     |    |    |   |    | +  |     |    |    |   |    | +  |     | +  | +  |
| pentan-2-ol             |                      |    |    |     |    |    |   | +  |    | +   |    |    |   | +  |    |     | +  | +  |
| ester                   |                      |    |    |     |    |    |   |    |    |     |    |    |   |    |    |     |    |    |
| 2-metylo-maślan etylu   |                      |    |    |     |    |    |   |    |    | +   |    |    |   |    |    | +   |    |    |
| izomaślan etylu         | +                    | +  | +  |     | +  | +  |   |    |    | +   |    |    |   |    |    | +   |    |    |
| propionian heksylu      |                      |    |    |     |    |    |   |    |    |     |    | +  |   |    |    |     |    |    |
| izomaślan metylu        | +                    | +  | +  |     | +  | +  |   |    |    |     |    |    |   |    |    |     |    |    |
| propanian propylu       |                      |    |    |     |    |    |   | +  | +  | +   |    | +  |   | +  | +  | +   | +  | +  |
| keton                   |                      |    |    |     |    |    |   |    |    |     |    |    |   |    |    |     |    |    |
| 1-heksen-3-on           |                      |    |    |     |    |    |   |    |    | +   |    |    |   |    |    | +   |    |    |
| 2,3-butanodiol          |                      |    |    |     |    |    |   |    |    |     |    |    |   |    |    |     | +  | +  |
| sotolon                 |                      |    |    |     |    |    |   |    | +  |     |    |    |   | +  | +  |     |    |    |
| kwas                    |                      |    |    |     |    |    |   |    |    |     |    |    |   |    |    |     |    |    |
| kwas octowy             | +                    | +  | +  | +   | +  | +  | + | +  | +  | +   | +  | +  |   | +  | +  | +   | +  | +  |
| kwas pentanowy          |                      |    |    |     |    |    |   |    |    | +   |    | +  |   |    |    | +   |    |    |
| kwas propanowy          |                      | +  | +  |     |    |    |   | +  | +  |     |    |    |   | +  | +  |     |    |    |
| octan                   |                      |    |    |     |    |    |   |    |    |     |    |    |   |    |    |     |    |    |
| octan bezylu            |                      |    |    |     |    |    | + |    |    |     |    | +  | + |    |    |     |    |    |
| octan izoamylu          |                      |    |    |     |    |    |   |    |    |     |    |    |   |    |    |     | +  |    |
| octan izopropylu        | +                    | +  | +  | +   | +  | +  |   |    |    |     |    |    |   |    |    |     |    |    |
| terpen                  |                      |    |    |     |    |    |   |    |    |     |    |    |   |    |    |     |    |    |
| alfa-phellandren        |                      |    |    |     |    |    |   |    |    |     |    | +  |   |    |    |     |    |    |
| alfapinen               |                      |    | +  | +   |    | +  |   |    | +  | +   |    | +  |   |    | +  |     |    | +  |
| limonen                 |                      |    |    | +   |    |    |   |    |    | +   |    |    |   |    |    |     |    |    |
| związki siarkowe        |                      |    |    |     |    |    |   |    |    |     |    |    |   |    |    |     |    |    |
| siarczek dimetylu       |                      |    |    |     |    |    |   |    |    |     |    |    |   |    |    |     | +  | +  |
| 2-methyl-2-propanethiol |                      |    |    |     |    |    | + | +  | +  | +   | +  |    | + | +  | +  | +   |    |    |

Tab. 12. Profil związków lotnych burgerów grillowanych w 0, 4 oraz 8 dniu przechowywania.

| Związek lotny          | Dzień przechowywania |    |    |     |    |    |   |    |    |     |    |    |   |    |    |     |    |    |
|------------------------|----------------------|----|----|-----|----|----|---|----|----|-----|----|----|---|----|----|-----|----|----|
|                        | 0                    |    |    |     |    |    | 4 |    |    |     |    |    | 8 |    |    |     |    |    |
|                        | G                    | GT | GE | GET | CT | CO | G | GT | GE | GET | CT | CO | G | GT | GE | GET | CT | CO |
| aldehyd                |                      |    |    |     |    |    |   |    |    |     |    |    |   |    |    |     |    |    |
| (E)-3-heksenal         | +                    | +  |    |     |    |    | + | +  |    |     | +  |    | + | +  |    |     |    |    |
| (E,E)-2,4-heksadienal  | +                    | +  |    |     |    |    | + | +  | +  |     |    |    | + | +  | +  |     |    |    |
| 2-metylopropanal       |                      |    | +  | +   | +  |    |   |    |    |     | +  |    | + |    | +  |     |    |    |
| 3-metylobutanal        |                      |    |    |     | +  |    |   |    |    |     |    |    |   |    |    |     |    |    |
| benzaldehyd            |                      | +  |    |     |    |    |   | +  |    |     |    |    |   | +  |    |     | +  |    |
| benzenoacetaldehyd     | +                    | +  | +  | +   |    | +  | + | +  | +  | +   |    | +  | + | +  | +  | +   |    | +  |
| metional               |                      |    |    |     |    | +  |   |    |    | +   |    | +  |   |    |    |     |    | +  |
| propanal               |                      |    |    |     |    | +  |   | +  |    |     |    | +  |   |    | +  |     |    | +  |
| alkohol                |                      |    |    |     |    |    |   |    |    |     |    |    |   |    |    |     |    |    |
| 1-heksanol             |                      |    |    |     |    |    |   |    |    | +   | +  |    |   |    |    | +   | +  |    |
| 1-heksen-3-ol          |                      |    | +  | +   |    | +  |   |    | +  | +   |    | +  |   |    | +  |     |    | +  |
| 1-propanol             | +                    | +  | +  | +   | +  | +  | + | +  | +  | +   | +  | +  | + | +  | +  | +   | +  | +  |
| 1-propanol, 2-metylo   | +                    | +  | +  | +   |    |    | + | +  | +  | +   |    |    | + | +  | +  | +   |    |    |
| 2-furanometanol        |                      |    |    |     |    | +  |   |    |    |     |    | +  |   |    |    |     |    | +  |
| n-butanol              |                      |    |    |     |    |    |   |    |    |     |    |    |   |    |    |     | +  |    |
| pentan-2-ol            |                      |    | +  | +   |    |    |   |    | +  | +   |    |    |   |    | +  |     |    |    |
| ester                  |                      |    |    |     |    |    |   |    |    |     |    |    |   |    |    |     |    |    |
| ethyl 2-methylbutyrate |                      |    |    | +   |    |    |   |    |    | +   |    |    |   |    |    |     |    |    |
| propanian propylu      |                      |    |    |     |    |    |   |    |    |     |    |    |   |    |    |     | +  |    |
| keton                  |                      |    |    |     |    |    |   |    |    |     |    |    |   |    |    |     |    |    |
| 1-heksen-3-on          |                      |    |    |     |    |    |   |    |    |     |    |    |   |    |    | +   |    |    |
| 2,3-butandiol          |                      |    |    |     |    |    |   |    |    |     |    |    |   |    |    |     |    | +  |
| 2-acetylo-1-pirolina   |                      |    |    |     | +  |    |   |    |    |     | +  |    |   |    |    |     | +  |    |
| acetofenon             |                      |    |    |     | +  | +  |   |    |    |     |    | +  |   |    |    |     |    | +  |
| kwas                   |                      |    |    |     |    |    |   |    |    |     |    |    |   |    |    |     |    |    |
| kwas 3-metylobutanowy  | +                    |    |    |     |    |    | + |    |    |     |    |    | + |    |    |     |    |    |
| kwas octowy            |                      | +  | +  | +   | +  |    |   | +  |    | +   |    |    |   |    |    |     | +  |    |
| kwas benzoesowy        |                      |    |    |     |    |    |   |    |    |     |    |    |   |    |    |     |    | +  |
| octan                  |                      |    |    |     |    |    |   |    |    |     |    |    |   |    |    |     |    |    |
| octan etylu            | +                    | +  | +  | +   |    | +  |   | +  | +  | +   |    |    |   | +  | +  | +   |    |    |
| terpen                 |                      |    |    |     |    |    |   |    |    |     |    |    |   |    |    |     |    |    |
| alfa-phellandren       |                      |    |    |     |    |    |   |    |    |     |    |    |   |    |    |     | +  |    |
| alfapinen              |                      |    | +  | +   |    | +  |   |    | +  | +   |    | +  |   | +  | +  |     |    | +  |
| związki azotowe        |                      |    |    |     |    |    |   |    |    |     |    |    |   |    |    |     |    |    |
| pirazyna               | +                    | +  | +  | +   |    |    | + | +  | +  | +   |    |    | + | +  | +  | +   | +  |    |
| pyrrole                |                      |    |    |     | +  |    | + |    |    |     |    |    | + | +  |    |     | +  |    |
| związki siarkowe       |                      |    |    |     |    |    |   |    |    |     |    |    |   |    |    |     |    |    |
| 2-metylo-2-propanetiol |                      |    |    |     |    |    |   |    | +  | +   | +  |    | + | +  |    |     |    |    |
| siarczek dimetylu      |                      |    |    |     | +  |    |   |    |    |     | +  |    |   |    |    |     | +  |    |

### **Analiza profilu kwasów tłuszczowych oraz wskaźników żywieniowych AI, TI, h/H**

Analiza profilu kwasów tłuszczowych oraz wskaźników żywieniowych w surowych oraz grillowanych burgerach w 0, 4 oraz 8 dniu przechowywania przedstawia tab. 13 oraz tab. 14. Na profil kwasów tłuszczowych wpływ miał rodzaj zastosowanej formuacji. Analiza nasyconych kwasów tłuszczowych (SFA) oraz nienasyconych (MUFA, PUFA) w surowym burgerze (tab. 13) wykazała, że wraz z czasem przechowywania wartość SFA wzrasta a MUFA, PUFA zmniejsza się, bez względu na zastosowany wariant. Otrzymany wynik jest zgodny z teorią, że wraz ze wzrostem liczby wiązań podwójnych w kwasie tłuszczowym podatność na proces utleniania wzrasta (Carvalho i wsp., 2019). Zgodnie z oczekiwaniami, obecność oleju z krokosza zwiększył znacząco zawartość PUFA w surowych burgerach z 1% (CT) do 24% (GE). Analiza PUFA oraz MUFA w reformulowanych burgerach surowych wykazała, że udział ekstraktu z acai (GE) przyczynił się do obniżenia stopnia oksydacji. Badania przeprowadzone przez Carvalho i wsp., (2019), Rutkowska i wsp., (2020) potwierdzają, pozytywny wpływ ekstraktu (liście pitanga, nasiona guarany, owoce aronii) na spowolnienie zmian oksydacyjnych w tłuszczu. Zastosowany w doświadczeniu olej krokoszowy charakteryzował się wysoką zawartością PUFA (79%), oraz stosunkiem n-6/n-3 na poziomie 526. Natomiast, zastosowana reformulacja burgerów z kaspułkowanym olejem z krokosza z udziałem mąki lnianej pozwoliła na redukcję stosunku n-6/n-3 aż 10 krotnie (50 dla CO, 5 dla GE) przy jednoczesnym zachowaniu wysokiej wartości PUFA. Według zaleceń żywieniowych stosunek ten powinien wynosić 5-4:1 (Rutkowska i wsp., 2016). W przypadku pozostałych wskaźników żywieniowych zalecane jest by produkty mięsne charakteryzowały się jak najniższymi wartościami indeksu AI oraz TI, natomiast stosunek h/H powinien być jak najwyższy (Barros i wsp., 2020). W przeprowadzonych badaniach bez względu na czas przechowywania zastosowane warianty burgerów z zamiennikami tłuszczu charakteryzowały się najniższymi parametrami AI oraz TI w porównaniu do CT. Ponadto hydrożele emulsyjne z mąką lnianą w znaczącym stopniu zwiększyły stosunek h/H z 1,3 (CT) do 2,5 (GE). Biorąc pod uwagę analizowane wskaźniki zdrowotności, najlepszymi parametrami charakteryzowały się burgery surowe z udziałem ekstraktu z acai (GE) w stosunku do hydrożelu bez ekstraktu (G). Analiza profilu kwasów tłuszczowych w burgerze grillowanym (tab. 14) wykazała, że zastosowanie reformulowanych burgerów przyczyniła się do zwiększenia zawartości PUFA w porównaniu do CT oraz CO. Ponadto, zastosowane warianty przyczyniły się do obniżenia stosunku kwasów n-6/n-3 z 24 (CO) do 5 (GE), co jest niezwykle istotne dla zachowania prawidłowych zaleceń żywieniowych. Podobnie jak dla burgerów surowych zastosowanie reformulacji burgerów skutkowało obniżeniem wskaźników indeksu AI oraz TI, natomiast poprawiło wskaźnik h/H.

Tab. 13. Profil kwasów tłuszczowych i wskaźników żywieniowych w burgerach surowych w 0, 4 oraz 8 dniu przechowywania. (G - olej kapsułkowany, GT - olej kapsułkowany + łój, GE - olej kapsułkowany + ekstrakt acai, GET - olej kapsułkowany + ekstrakt acai+ łój, CT - kontrola z łojem, CO - kontrola z olejem).

| Burgery surowy |                         |                          |                          |                         |                         |                         |
|----------------|-------------------------|--------------------------|--------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|
|                | G                       | GT                       | GE                       | GET                     | CT                      | CO                      |
| SFA            |                         |                          |                          |                         |                         |                         |
| 0              | 40,0±0,22 <sup>A</sup>  | 30,2±0,62 <sup>B</sup>   | 34,6±0,10 <sup>AB</sup>  | 35,4±0,07 <sup>AB</sup> | 40,2±1,59 <sup>A</sup>  | 41,1±3,76 <sup>A</sup>  |
| 4              | 41,5±0,22 <sup>C</sup>  | 40,7±0,74 <sup>CD</sup>  | 46,0±1,76 <sup>B</sup>   | 42,7±0,62 <sup>C</sup>  | 50,1±0,04 <sup>A</sup>  | 37,7±0,42 <sup>D</sup>  |
| 8              | 43,8±0,85 <sup>C</sup>  | 45,3±1,52 <sup>BC</sup>  | 40,9±0,09 <sup>D</sup>   | 44,1±1,65 <sup>CD</sup> | 50,5±0,90 <sup>A</sup>  | 49,4±0,08 <sup>AB</sup> |
| MUFA           |                         |                          |                          |                         |                         |                         |
| 0              | 36,6±0,56 <sup>C</sup>  | 47,5±2,34 <sup>B</sup>   | 38,8±0,71 <sup>C</sup>   | 41,6±0,68 <sup>BC</sup> | 58,8±0,63 <sup>A</sup>  | 33,1±2,15 <sup>D</sup>  |
| 4              | 34,7±0,99 <sup>C</sup>  | 39,9±0,37 <sup>B</sup>   | 31,9±0,06 <sup>D</sup>   | 38,2±0,38 <sup>B</sup>  | 48,5±0,01 <sup>A</sup>  | 33,5±0,07 <sup>CD</sup> |
| 8              | 32,2±0,43 <sup>A</sup>  | 36,5±0,72 <sup>B</sup>   | 37,6±0,52 <sup>B</sup>   | 35,7±0,13 <sup>B</sup>  | 48,0±0,97 <sup>A</sup>  | 30,9±0,39 <sup>A</sup>  |
| PUFA           |                         |                          |                          |                         |                         |                         |
| 0              | 23,3±1,32 <sup>B</sup>  | 20,8±1,42 <sup>B</sup>   | 25,7±1,03 <sup>A</sup>   | 20,4±0,49 <sup>B</sup>  | 1,0±0,01 <sup>C</sup>   | 25,8±0,94 <sup>A</sup>  |
| 4              | 21,4±1,97 <sup>B</sup>  | 18,9±1,05 <sup>C</sup>   | 24,0±1,55 <sup>AB</sup>  | 17,9±0,17 <sup>C</sup>  | 0,9±0,01 <sup>D</sup>   | 27,6±0,72 <sup>A</sup>  |
| 8              | 20,2±0,53 <sup>B</sup>  | 17,3±0,21 <sup>D</sup>   | 22,6±0,14 <sup>A</sup>   | 18,3±0,30 <sup>CD</sup> | 1,0±0,03 <sup>E</sup>   | 19,3±0,29 <sup>BC</sup> |
| CLA            |                         |                          |                          |                         |                         |                         |
| 0              | 0,49±0,03 <sup>B</sup>  | 0,60±0,00 <sup>AB</sup>  | 0,51±0,06 <sup>BC</sup>  | 0,49±0,01 <sup>BC</sup> | 0,71±0,01 <sup>A</sup>  | 0,48±0,02 <sup>C</sup>  |
| 4              | 0,50±0,03 <sup>A</sup>  | 0,47±0,04 <sup>BC</sup>  | 0,38±0,00 <sup>BC</sup>  | 0,45±0,00 <sup>C</sup>  | 0,57±0,02 <sup>A</sup>  | 0,44±0,02 <sup>BC</sup> |
| 8              | 0,45±0,00 <sup>B</sup>  | 0,41±0,02 <sup>B</sup>   | 0,41±0,04 <sup>B</sup>   | 0,42±0,00 <sup>B</sup>  | 0,54±0,03 <sup>A</sup>  | 0,40±0,01 <sup>B</sup>  |
| n3             |                         |                          |                          |                         |                         |                         |
| 0              | 3,25±0,58 <sup>B</sup>  | 2,81±0,06 <sup>B</sup>   | 4,28±0,21 <sup>A</sup>   | 3,38±0,07 <sup>AB</sup> | 0,50±0,01 <sup>C</sup>  | 0,49±0,01 <sup>C</sup>  |
| 4              | 3,74±0,13 <sup>A</sup>  | 1,94±0,42 <sup>B</sup>   | 3,51±0,34 <sup>A</sup>   | 3,12±0,07 <sup>A</sup>  | 0,46±0,01 <sup>C</sup>  | 0,55±0,01 <sup>C</sup>  |
| 8              | 2,68±0,11 <sup>B</sup>  | 2,18±0,10 <sup>B</sup>   | 3,53±0,06 <sup>A</sup>   | 2,57±0,43 <sup>B</sup>  | 0,60±0,10 <sup>C</sup>  | 0,50±0,01 <sup>C</sup>  |
| n6             |                         |                          |                          |                         |                         |                         |
| 0              | 19,85±2,05 <sup>B</sup> | 18,09±1,43 <sup>B</sup>  | 21,22±0,76 <sup>AB</sup> | 16,85±0,42 <sup>B</sup> | 0,30±0,01 <sup>C</sup>  | 25,11±0,91 <sup>A</sup> |
| 4              | 18,01±0,97 <sup>B</sup> | 16,04±0,40 <sup>BC</sup> | 17,96±1,42 <sup>B</sup>  | 14,83±0,07 <sup>C</sup> | 0,30±0,00 <sup>D</sup>  | 26,88±0,70 <sup>A</sup> |
| 8              | 17,32±0,64 <sup>A</sup> | 14,64±0,33 <sup>BC</sup> | 18,86±0,09 <sup>A</sup>  | 13,90±1,61 <sup>C</sup> | 0,25±0,07 <sup>D</sup>  | 18,69±0,39 <sup>A</sup> |
| n6/n3          |                         |                          |                          |                         |                         |                         |
| 0              | 6,0±0,04 <sup>B</sup>   | 7,4±0,04 <sup>B</sup>    | 5,1±0,17 <sup>B</sup>    | 5,0±0,02 <sup>B</sup>   | 0,6±0,02 <sup>C</sup>   | 50,1±1,68 <sup>A</sup>  |
| 4              | 5,4±0,74 <sup>C</sup>   | 7,1±0,11 <sup>B</sup>    | 5,2±0,05 <sup>C</sup>    | 5,2±0,24 <sup>C</sup>   | 0,7±0,03 <sup>D</sup>   | 50,6±0,50 <sup>A</sup>  |
| 8              | 6,5±0,51 <sup>B</sup>   | 7,1±0,02 <sup>B</sup>    | 5,4±0,04 <sup>B</sup>    | 5,2±0,00 <sup>B</sup>   | 0,4±0,19 <sup>C</sup>   | 36,1±1,07 <sup>A</sup>  |
| TI             |                         |                          |                          |                         |                         |                         |
| 0              | 0,97±0,01 <sup>B</sup>  | 0,71±0,01 <sup>C</sup>   | 0,76±0,01 <sup>C</sup>   | 0,81±0,01 <sup>C</sup>  | 1,16±0,03 <sup>AB</sup> | 1,31±0,20 <sup>A</sup>  |
| 4              | 1,01±0,02 <sup>B</sup>  | 1,09±0,08 <sup>B</sup>   | 1,10±0,11 <sup>B</sup>   | 1,13±0,03 <sup>B</sup>  | 1,78±0,01 <sup>A</sup>  | 1,13±0,02 <sup>B</sup>  |
| 8              | 1,33±0,12 <sup>B</sup>  | 1,34±0,09 <sup>B</sup>   | 1,04±0,02 <sup>C</sup>   | 1,17±0,01 <sup>BC</sup> | 1,72±0,02 <sup>A</sup>  | 1,83±0,01 <sup>A</sup>  |
| AI             |                         |                          |                          |                         |                         |                         |
| 0              | 0,53±0,04 <sup>B</sup>  | 0,45±0,01 <sup>B</sup>   | 0,47±0,01 <sup>B</sup>   | 0,51±0,01 <sup>B</sup>  | 0,66±0,02 <sup>A</sup>  | 0,53±0,03 <sup>B</sup>  |
| 4              | 0,58±0,01 <sup>A</sup>  | 0,57±0,01 <sup>A</sup>   | 0,52±0,03 <sup>A</sup>   | 0,60±0,00 <sup>A</sup>  | 0,85±0,00 <sup>B</sup>  | 0,49±0,00 <sup>A</sup>  |
| 8              | 0,58±0,02 <sup>B</sup>  | 0,63±0,01 <sup>B</sup>   | 0,54±0,01 <sup>C</sup>   | 0,61±0,03 <sup>BC</sup> | 0,90±0,02 <sup>A</sup>  | 0,65±0,02 <sup>B</sup>  |
| h/H            |                         |                          |                          |                         |                         |                         |
| 0              | 2,53±0,01 <sup>A</sup>  | 2,89±0,14 <sup>A</sup>   | 2,71±0,06 <sup>AB</sup>  | 2,48±0,04 <sup>AB</sup> | 1,80±0,08 <sup>C</sup>  | 2,30±0,22 <sup>B</sup>  |
| 4              | 2,14±0,03 <sup>BC</sup> | 2,11±0,02 <sup>BC</sup>  | 2,29±0,15 <sup>AB</sup>  | 1,99±0,01 <sup>C</sup>  | 1,33±0,01 <sup>D</sup>  | 2,50±0,02 <sup>A</sup>  |
| 8              | 1,98±0,02 <sup>B</sup>  | 1,89±0,00 <sup>BC</sup>  | 2,16±0,07 <sup>A</sup>   | 1,91±0,03 <sup>BC</sup> | 1,25±0,03 <sup>D</sup>  | 1,77±0,07 <sup>C</sup>  |

<sup>A-D</sup> średnie wartości między wariantami w tym samym dniu przechowywania, z różnymi literami oznaczają istotną różnicę, SFA- nasycone kwasy tłuszczowe; MUFA – jednonienasycone kwasy tłuszczowe; PUFA: wielonienasycone kwasy tłuszczowe; AI – indeks aterogenności; TI – indeks trombogenności h/H – stosunek kwasów tłuszczowych hipcholesterolemicznych do hipercholesterolemicznych

Tab. 14. Profil kwasów tłuszczowych i wskaźników żywieniowych w burgerach grillowanych w 0,4 oraz 8 dniu przechowywania.( G - olej kapsułkowany, GT - olej kapsułkowany + łój, GE - olej kapsułkowany + ekstrakt acai, GET - olej kapsułkowany + ekstrakt acai+ łój, CT - kontrola z łojem, CO - kontrola z olejem).

| Burgery grillowane |                          |                         |                         |                          |                         |                            |
|--------------------|--------------------------|-------------------------|-------------------------|--------------------------|-------------------------|----------------------------|
|                    | G                        | GT                      | GE                      | GET                      | CT                      | CO                         |
| SFA                |                          |                         |                         |                          |                         |                            |
| 0                  | 42,93±0,69 <sup>B</sup>  | 40,86±2,47 <sup>B</sup> | 50,20±1,25 <sup>A</sup> | 48,88±4,36 <sup>A</sup>  | 50,21±1,06 <sup>A</sup> | 47,47±10,32 <sup>AB</sup>  |
| 4                  | 43,81±1,28 <sup>B</sup>  | 41,06±1,86 <sup>B</sup> | 38,56±1,89 <sup>C</sup> | 45,35±0,83 <sup>B</sup>  | 50,21±1,67 <sup>A</sup> | 42,85±1,84 <sup>B</sup>    |
| 8                  | 43,92±0,71 <sup>C</sup>  | 40,86±2,47 <sup>C</sup> | 51,66±0,81 <sup>A</sup> | 47,48±2,38 <sup>B</sup>  | 50,04±0,84 <sup>A</sup> | 51,41±15,90 <sup>ABC</sup> |
| MUFA               |                          |                         |                         |                          |                         |                            |
| 0                  | 34,06±3,32 <sup>C</sup>  | 38,54±0,57 <sup>B</sup> | 31,52±2,71 <sup>C</sup> | 32,32±0,27 <sup>C</sup>  | 46,85±1,32 <sup>A</sup> | 28,64±2,58 <sup>C</sup>    |
| 4                  | 34,94±0,11 <sup>C</sup>  | 39,55±0,90 <sup>B</sup> | 37,00±1,74 <sup>B</sup> | 35,81±1,53 <sup>C</sup>  | 47,95±0,74 <sup>A</sup> | 40,66±2,50 <sup>B</sup>    |
| 8                  | 35,33±1,50 <sup>CD</sup> | 38,34±0,85 <sup>B</sup> | 32,73±0,99 <sup>D</sup> | 32,32±0,27 <sup>D</sup>  | 47,36±0,60 <sup>A</sup> | 28,64±2,58 <sup>DE</sup>   |
| PUFA               |                          |                         |                         |                          |                         |                            |
| 0                  | 20,55±0,53 <sup>A</sup>  | 19,40±0,36 <sup>A</sup> | 19,86±1,49 <sup>A</sup> | 18,73±4,20 <sup>AB</sup> | 2,76±0,00 <sup>C</sup>  | 12,65±3,00 <sup>B</sup>    |
| 4                  | 21,25±1,39 <sup>B</sup>  | 18,46±0,36 <sup>C</sup> | 27,01±0,00 <sup>A</sup> | 17,89±1,01 <sup>C</sup>  | 3,91±0,03 <sup>D</sup>  | 18,27±0,22 <sup>C</sup>    |
| 8                  | 20,75±0,79 <sup>A</sup>  | 19,40±0,36 <sup>A</sup> | 20,11±1,14 <sup>A</sup> | 20,20±2,11 <sup>A</sup>  | 2,77±0,00 <sup>C</sup>  | 12,65±3,00 <sup>B</sup>    |
| CLA                |                          |                         |                         |                          |                         |                            |
| 0                  | 0,21±0,04 <sup>D</sup>   | 0,26±0,02 <sup>B</sup>  | 0,26±0,02 <sup>B</sup>  | 0,20±0,01 <sup>D</sup>   | 0,33±0,03 <sup>A</sup>  | 0,23±0,04 <sup>C</sup>     |
| 4                  | 0,25±0,01 <sup>C</sup>   | 0,27±0,03 <sup>B</sup>  | 0,30±0,03 <sup>AB</sup> | 0,24±0,01 <sup>C</sup>   | 0,32±0,02 <sup>A</sup>  | 0,25±0,04 <sup>AB</sup>    |
| 8                  | 0,21±0,04 <sup>C</sup>   | 0,26±0,02 <sup>B</sup>  | 0,25±0,02 <sup>B</sup>  | 0,20±0,01 <sup>C</sup>   | 0,33±0,03 <sup>A</sup>  | 0,23±0,04 <sup>B</sup>     |
| n3                 |                          |                         |                         |                          |                         |                            |
| 0                  | 3,56±0,13 <sup>A</sup>   | 2,80±0,61 <sup>AB</sup> | 3,28±0,21 <sup>A</sup>  | 3,45±0,37 <sup>A</sup>   | 0,46±0,03 <sup>C</sup>  | 0,61±0,27 <sup>C</sup>     |
| 4                  | 3,40±0,41 <sup>A</sup>   | 2,51±0,01 <sup>C</sup>  | 4,26±0,00 <sup>A</sup>  | 3,95±0,53 <sup>A</sup>   | 0,52±0,08 <sup>D</sup>  | 0,74±0,03 <sup>D</sup>     |
| 8                  | 3,03±0,63 <sup>A</sup>   | 3,01±0,32 <sup>A</sup>  | 3,28±0,21 <sup>A</sup>  | 3,45±0,37 <sup>A</sup>   | 0,46±0,03 <sup>B</sup>  | 0,48±0,09 <sup>B</sup>     |
| n6                 |                          |                         |                         |                          |                         |                            |
| 0                  | 16,34±0,49 <sup>A</sup>  | 15,96±0,28 <sup>A</sup> | 15,31±0,38 <sup>A</sup> | 14,89±3,55 <sup>AB</sup> | 1,76±0,24 <sup>C</sup>  | 11,59±2,83 <sup>B</sup>    |
| 4                  | 19,28±4,15 <sup>AB</sup> | 15,29±0,35 <sup>B</sup> | 22,05±0,00 <sup>A</sup> | 13,32±0,52 <sup>C</sup>  | 2,49±0,38 <sup>D</sup>  | 16,78±0,10 <sup>B</sup>    |
| 8                  | 17,07±1,51 <sup>A</sup>  | 17,53±2,51 <sup>A</sup> | 16,02±1,27 <sup>A</sup> | 16,19±1,71 <sup>A</sup>  | 1,59±0,01 <sup>C</sup>  | 11,59±2,83 <sup>B</sup>    |
| n6/n3              |                          |                         |                         |                          |                         |                            |
| 0                  | 4,59±0,03 <sup>D</sup>   | 6,86±0,09 <sup>B</sup>  | 4,96±0,03 <sup>BC</sup> | 4,61±0,12 <sup>D</sup>   | 3,77±0,27 <sup>E</sup>  | 24,08±1,33 <sup>A</sup>    |
| 4                  | 5,48±0,76 <sup>BC</sup>  | 6,10±0,11 <sup>B</sup>  | 5,18±0,00 <sup>C</sup>  | 3,39±0,32 <sup>D</sup>   | 3,70±0,20 <sup>D</sup>  | 22,55±0,88 <sup>A</sup>    |
| 8                  | 5,82±1,71 <sup>B</sup>   | 5,90±1,45 <sup>B</sup>  | 4,96±0,02 <sup>BC</sup> | 4,64±0,07 <sup>C</sup>   | 3,60±0,02 <sup>D</sup>  | 24,08±1,33 <sup>A</sup>    |
| TI                 |                          |                         |                         |                          |                         |                            |
| 0                  | 1,19±0,08 <sup>C</sup>   | 1,09±0,11 <sup>C</sup>  | 1,38±0,21 <sup>C</sup>  | 1,42±0,29 <sup>C</sup>   | 1,90±0,03 <sup>B</sup>  | 2,16±0,33 <sup>A</sup>     |
| 4                  | 1,02±0,26 <sup>C</sup>   | 1,15±0,02 <sup>C</sup>  | 0,85±0,00 <sup>D</sup>  | 1,18±0,08 <sup>B</sup>   | 1,87±0,14 <sup>A</sup>  | 1,37±0,11 <sup>B</sup>     |
| 8                  | 1,19±0,09 <sup>C</sup>   | 1,14±0,03 <sup>C</sup>  | 1,60±0,52 <sup>BC</sup> | 1,32±0,15 <sup>C</sup>   | 1,87±0,07 <sup>B</sup>  | 2,16±0,33 <sup>A</sup>     |
| AI                 |                          |                         |                         |                          |                         |                            |
| 0                  | 0,63±0,01 <sup>C</sup>   | 0,58±0,03 <sup>D</sup>  | 0,63±0,02 <sup>C</sup>  | 0,70±0,17 <sup>BCD</sup> | 0,85±0,01 <sup>A</sup>  | 0,94±0,14 <sup>A</sup>     |
| 4                  | 0,54±0,11 <sup>AB</sup>  | 0,57±0,04 <sup>AB</sup> | 0,50±0,00 <sup>B</sup>  | 0,65±0,09 <sup>AB</sup>  | 0,76±0,03 <sup>A</sup>  | 0,57±0,00 <sup>AB</sup>    |
| 8                  | 0,62±0,02 <sup>B</sup>   | 0,56±0,05 <sup>B</sup>  | 0,69±0,10 <sup>B</sup>  | 0,58±0,05 <sup>B</sup>   | 0,84±0,02 <sup>A</sup>  | 0,79±0,35 <sup>AB</sup>    |
| h/H                |                          |                         |                         |                          |                         |                            |
| 0                  | 1,93±0,04 <sup>A</sup>   | 2,09±0,12 <sup>A</sup>  | 1,91±0,06 <sup>A</sup>  | 1,98±0,11 <sup>A</sup>   | 1,32±0,00 <sup>B</sup>  | 1,21±0,20 <sup>B</sup>     |
| 4                  | 2,38±0,35 <sup>A</sup>   | 2,17±0,15 <sup>AB</sup> | 2,50±0,00 <sup>A</sup>  | 1,82±0,30 <sup>AB</sup>  | 1,42±0,20 <sup>C</sup>  | 2,11±0,01 <sup>B</sup>     |
| 8                  | 2,00±0,05 <sup>A</sup>   | 2,17±0,23 <sup>A</sup>  | 1,85±0,15 <sup>A</sup>  | 1,98±0,11 <sup>A</sup>   | 1,34±0,02 <sup>B</sup>  | 1,21±0,20 <sup>B</sup>     |

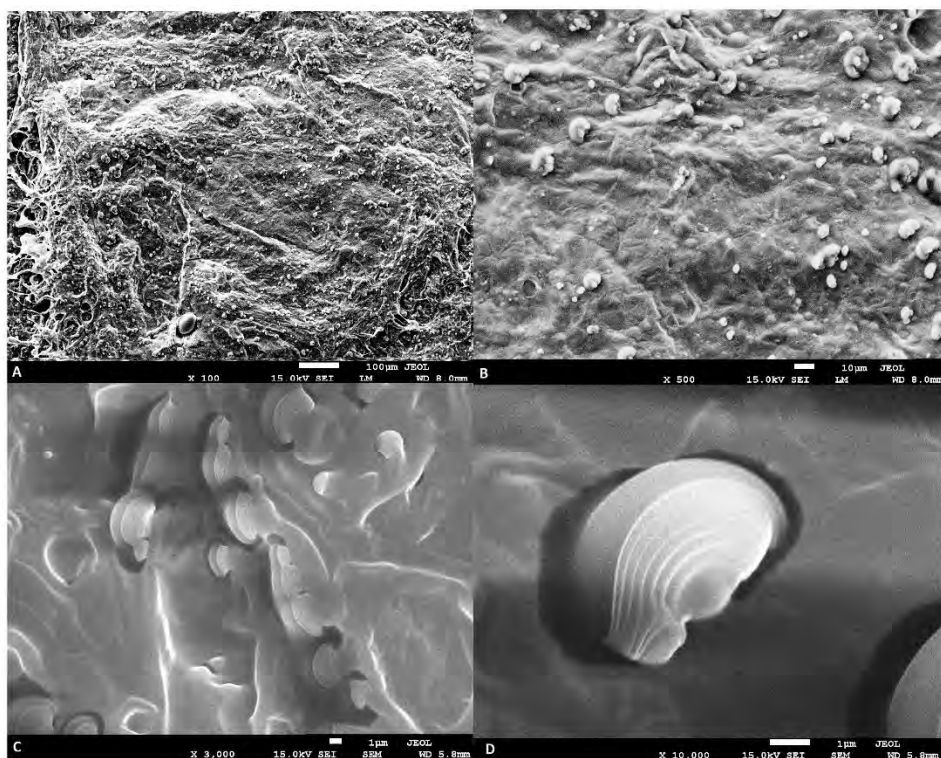
<sup>A-D</sup> średnie wartości między wariantami w tym samym dniu przechowywania, z różnymi literami oznaczają istotną różnicę, SFA- nasycone kwasy tłuszczowe; MUFA – jednonienasycone kwasy tłuszczowe; PUFA: wielonienasycone kwasy tłuszczowe; AI – indeks aterogenności; TI – indeks trombogenności h/H – stosunek kwasów tłuszczowych hipcholesterolemicznych do hipercholesterolemicznych

### 5.3 Etap III - jakość burgerów wołowych z udziałem liofilizowanego hydrożelu z kapsułkowanym olejem z acai

W etapie III ocenie poddano burgery wołowe przechowywane w warunkach chłodniczych z udziałem substytutu tłuszczu zwierzęcego. Materiał badawczy został poddany badaniom fizycznym oraz chemicznym.

#### Analiza SEM liofilizatu hydrożelowej emulsji z kapsułkowanym olejem z acai

Przeprowadzona analiza SEM liofilizatu hydrożelowej emulsji została przedstawiona na rys.12. Analiza SEM wykazała, że z sukcesem otrzymano nanokapsułki w matrycy polisacharydowej, a proces liofilizacji nie wpłynął w negatywny sposób na ich strukturę. Proces kapsułkowania oleju z acai w polimerach (mąka konjac oraz alginian sodu) spowodował powstanie wielowarstwowych otoczek. Nanokapsułki wielowarstwowe były obserwowane w całej matrycy oraz były one rozłożone równomiernie.



Rys. 12. Analiza SEM liofilizowanego hydrożelu emulsyjnego z kapsułkowanym olejem z acai (31%), A,B -rozmieszczenie nanokapsulek, C,D- wielowarstwowe nanokapsułki.



## Analiza parametrów barwy i pH

Wyniki analizy barwy w burgerach surowych oraz grillowanych, zostały przedstawione w tab. 15. Analizując parametr barwy w burgerach surowych w dniu 0 zastosowane reformulacje nie wpłynęły na parametry barwy  $L^*$  oraz  $a^*$ , natomiast w przypadku parametru  $b^*$  wraz ze wzrostem % zamiennika tłuszczu wzrasta wartość tego parametru. Po 7 dniach przechowywania parametr jasności ( $L^*$ ) najwyższy był w przypadku CO, wraz ze wzrostem stopnia zastąpienia łożu stwierdzono niewielki spadek parametru jasności. Zastosowany zamiennik tłuszczu, jakim był liofilizowany hydrożel prawdopodobnie przyczynił się do związania wilgoci, natomiast w przypadku kontroli prawdopodobnie doszło do zmiany, która wpłynęła na zwiększenie jasności burgerów poprzez wpływ na chromatyczność (Aleson-Carbonell i wsp., 2005, Traore el al. 2012, Bastos i wsp., 2014). Zarówno dla CO jak i burgerów z zamiennikiem tłuszczu, z czasem przechowywania parametr  $a^*$  znacząco zmniejszył się ( $p < 0,05$ ). Jednakże najmniejszą różnicę pomiędzy dniem 7 a dniem 0 uzyskano dla wariantu S-100%. Ponadto parametr  $a^*$  w burgerach surowych w dniu 7 wzrastał wraz ze wzrostem stopnia zastąpienia tłuszczu. Wartość parametru  $b^*$  wraz z czasem przechowywania spada, we wszystkich zastosowanych reformulacjach. Pomimo tego, zamiennik tłuszczu przyczynił się do wzrostu wartości parametru  $b^*$  w porównaniu do CO. Zmniejszenie wartości parametru barwy  $a^*$  oraz  $b^*$  w trakcie przechowywania wskazują, że utrata czerwoności następuje w wyniku przemiany oksymoglobiny w methemoglobinę, w efekcie działania wolnych rodników. Wolne rodniki powstają podczas utleniania lipidów i oddziałują na grupę hemową mioglobiny, co inicjuje utlenianie cząsteczki i prowadzi do utraty barwy produktu. Tak więc, wolne rodniki powstające podczas utleniania mogą uszkadzać włókno mięśniowe i zmniejszać pigmentację mięsa (Ferreira i wsp., 2019). Uzyskane wyniki sugerują, że barwa czerwona dla zastosowanych reformulacji wynika nie tylko ze zmian zachodzących w mioglobinie ale również jest efektem zastosowania substytutu tłuszczu (tab. 15). Jednakże, analizując różnice pomiędzy burgerami grillowanymi zastosowanie zamiennika tłuszczu przyczyniło się do uzyskania wyższych wartości  $a^*$  (8,47-8,89 dla S-100%) oraz  $b^*$  (8,33-10,86 dla S-100%). Porównując wyniki parametrów barwy  $L^*a^*b^*$  burgerów grillowanych do burgerów surowych, wszystkie reformulacje wykazywały niższe wartości analizowanych parametrów po procesie obróbki termicznej (grillowaniu). Podobną tendencję w swoich badaniach uzyskali Wang i wsp., (2021). Otrzymany wynik, był prawdopodobnie efektem obróbki cieplnej, podczas której doszło do karmelizacji, denaturacji białka oraz przede wszystkim do reakcji Maillarda (Warren i wsp., 1996, Bertolo i wsp., 2021).

Tab. 15. Wpływ zastosowanego zamiennika tłuszczu (liofilizowana hydrożelowa emulsja z kapsułkowanym olejem z acai) na parametry barwy ( $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ,  $\Delta E$ ) oraz pH w 0 oraz 7 dniu przechowywania zarówno dla burgerów surowych oraz grillowanych.

| Dzień 0    |                             |                             |                             |                            |
|------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|----------------------------|
|            | $L^*$ [%]                   | $a^*$ [-]                   | $b^*$ [-]                   | pH                         |
| Surowe     |                             |                             |                             |                            |
| CO         | 42,15 (3,56)                | 21,26 (3,10) <sup>b</sup>   | 10,96 (1,3) <sup>Ab</sup>   | 5,38 (0,02) <sup>Aa</sup>  |
| S-25%      | 42,26 (2,91)                | 22,17 (1,69) <sup>b</sup>   | 12,03 (1,31) <sup>ABb</sup> | 5,50 (0,02) <sup>Ba</sup>  |
| S-50%      | 42,75 (2,46)                | 22,43 (0,96) <sup>b</sup>   | 11,75 (1,16) <sup>ABb</sup> | 5,51 (0,04) <sup>Ba</sup>  |
| S-75%      | 42,71 (2,17)                | 22,11 (2,13) <sup>b</sup>   | 11,67 (1,32) <sup>ABb</sup> | 5,56 (0,02) <sup>Ca</sup>  |
| S-100%     | 43,33 (2,59)                | 23,16 (1,36) <sup>b</sup>   | 12,99 (0,89) <sup>Bb</sup>  | 5,56 (0,02) <sup>Ca</sup>  |
| SEM        | 0,381                       | 0,283                       | 0,189                       | 0,016                      |
| Grillowane |                             |                             |                             |                            |
| CO         | 30,75 (2,37) <sup>Ba</sup>  | 6,76 (0,40) <sup>A</sup>    | 6,8 (1,01) <sup>a</sup>     |                            |
| S-25%      | 26,27 (2,19) <sup>Aa</sup>  | 6,78 (1,40) <sup>A</sup>    | 6,80 (1,50) <sup>a</sup>    |                            |
| S-50%      | 28,36 (3,03) <sup>ABa</sup> | 7,75 (1,16) <sup>AB</sup>   | 8,24 (1,53) <sup>a</sup>    |                            |
| S-75%      | 29,14 (2,3) <sup>ABa</sup>  | 8,05 (1,18) <sup>AB</sup>   | 7,89 (1,58) <sup>a</sup>    |                            |
| S-100%     | 29,74 (1,5) <sup>Ba</sup>   | 8,47 (1,17) <sup>B</sup>    | 8,33 (1,34) <sup>a</sup>    |                            |
| SEM        | 0,382                       | 0,180                       | 0,214                       |                            |
| Dzień 7    |                             |                             |                             |                            |
| Surowe     |                             |                             |                             |                            |
| CO         | 47,19 (3,27) <sup>B</sup>   | 14,01 (1,66) <sup>Aa</sup>  | 7,83 (0,78) <sup>Aa</sup>   | 5,67 (0,05) <sup>Ab</sup>  |
| S-25%      | 43,89 (4,18) <sup>AB</sup>  | 17,24 (1,62) <sup>Ba</sup>  | 9,87 (0,85) <sup>Ba</sup>   | 5,81 (0,13) <sup>Bb</sup>  |
| S-50%      | 41,91 (2,23) <sup>A</sup>   | 19,05 (2,60) <sup>BCa</sup> | 9,92 (1,51) <sup>Ba</sup>   | 5,68 (0,03) <sup>Ab</sup>  |
| S-75%      | 42,73 (4,15) <sup>A</sup>   | 19,06 (1,45) <sup>BCa</sup> | 10,30 (0,99) <sup>BCa</sup> | 5,69 (0,05) <sup>ABb</sup> |
| S-100%     | 41,77 (2,30) <sup>A</sup>   | 20,05 (1,18) <sup>Ca</sup>  | 11,46 (1,28) <sup>Ca</sup>  | 5,67 (0,03) <sup>Ab</sup>  |
| SEM        | 0,534                       | 0,388                       | 0,226                       | 0,016                      |
| Grillowane |                             |                             |                             |                            |
| CO         | 37,76 (2,47) <sup>b</sup>   | 6,38 (0,55) <sup>A</sup>    | 8,82 (0,90) <sup>Ab</sup>   |                            |
| S-25%      | 34,96 (2,73) <sup>b</sup>   | 6,72 (0,51) <sup>A</sup>    | 9,07 (0,97) <sup>Ab</sup>   |                            |
| S-50%      | 37,39 (2,65) <sup>b</sup>   | 7,86 (0,77) <sup>B</sup>    | 10,09 (0,96) <sup>ABb</sup> |                            |
| S-75%      | 37,76 (2,90) <sup>b</sup>   | 8,04 (0,84) <sup>BC</sup>   | 10,31 (1,79) <sup>ABb</sup> |                            |
| S-100%     | 38,32 (2,74) <sup>b</sup>   | 8,89 (1,15) <sup>C</sup>    | 10,86 (1,23) <sup>Bb</sup>  |                            |
| SEM        | 0,403                       | 0,170                       | 0,198                       |                            |

<sup>A-C</sup> – wartości oznaczone różnymi literami wskazują na istotną różnicę w tym danym dniu przechowywania pomiędzy wariantami, <sup>a-d</sup> – wartości oznaczone różnymi literami wskazują na istotny wpływ czasu przechowywania w każdej grupie badanej; \* -  $p \leq 0,05$

Wartości parametru  $\Delta E$  (dane nie pokazane) dla wariantów podczas przechowywania dla surowych burgerów wynosiły odpowiednio dla CO 9,3, S-25% 5,6, S-50% 3,9, S-75% 3,3 i S-100% 3,8. Według Altmanna i wsp., (2022), którzy dokonali szczegółowej analizy literaturowej  $\Delta E$  w mięsie surowym, stwierdzono, że różnica barwy już od 1 jest rozróżniana przez konsumentów. Uzyskane wyniki wskazują, że istnieją istotne różnice w zmianie barwy

w zależności od czasu przechowywania. W przypadku surowych burgerów najmniejszą różnicę wykazywały warianty zawierające  $\geq 50\%$  zamiennika tłuszczu. Różnica ta może wynikać z formy dodanego oleju roślinnego, który został zamknięty w kapsułkach. Ponadto, kapsułki te były usieciowane w polimerze roślinnym, co powodowało ograniczony dostęp czynników przyspieszających procesy utleniania tłuszczu (światło, tlen).

Wpływ zastosowanych reformulacji na pH burgerów surowych w 0 oraz 7 dniu przechowywania przedstawia tab. 15. Z przeprowadzonej analizy wynika, że wraz z czasem przechowywania nastąpił wzrost wartości pH bez względu na rodzaj zastosowanej reformulacji. Podobny rezultat w swoich badaniach otrzymali Soares i wsp., (2021). Wzrost pH w trakcie przechowywania jest związany z degradacją białka oraz z powstaniem związków lotnych należących do grupy azotowej, aminowej czy siarkowodorowej (Oroszvári i wsp., 2006). Niemniej jednak zamiennik tłuszczu w formie liofilizowanej hydrożelowej emulsji z kapsułkowanym olejem w dniu 0 przyczynił się do podniesienia pH w porównaniu do kontroli (5,38 CO; 5,50-5,56 S-25%-S-100%). Prawdopodobnie efekt ten związany jest z poziomem pH zastosowanego zamiennika tłuszczu. Natomiast, spowolnienie wzrostu pH w trakcie przechowywania może wynikać, z zatrzymania wody w przestrzeniach liofilizowanego biopolimeru.

### **Analiza profilu tekstury i zmiana masy podczas obróbki termicznej**

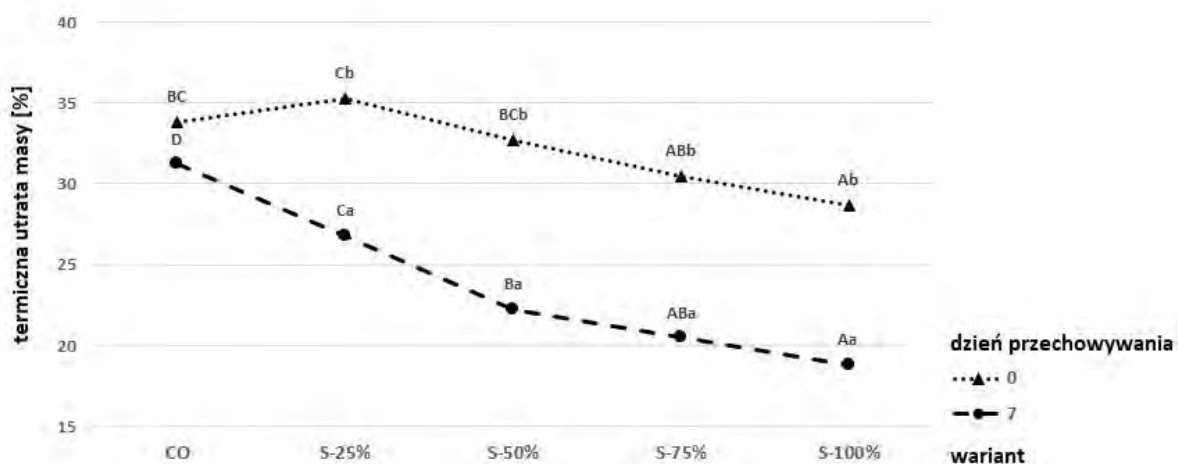
Zastosowanie zamiennika tłuszczu zwierzęcego liofilizowanym hydrożelem z kapsułkowanym olejem roślinnym wpłynęło na zmianę parametrów tekstury, otrzymane wyniki zostały przedstawione w tabeli 16. Analiza parametrów takich jak twardość, sprężystość, spoistość wykazały istotne różnice pomiędzy poszczególnymi reformulacjami ( $p < 0,05$ ). Wariant kontrolny (CO) charakteryzował się najwyższą wartością twardości, zarówno w 0 jak i 7 dniu przechowywania (102,36-75,82 (N); 0,53 (-); 0,38 (-); odpowiednio). Wraz ze wzrostem zastąpienia łożu wołowego przez zamiennik tłuszczu badane parametry istotnie maleją ( $p < 0,05$ ). Z otrzymanych danych, można wnioskować, że stopień zawartości łożu w burgerze wpływa na zwiększenie wartości parametrów tekstury. Z przeprowadzonych badań wynika, że głównym czynnikiem wpływającym na teksturę produktów spożywczych jest struktura tłuszczu. Fizykochemiczne właściwości tłuszczu oraz jego interakcje z mięsem mogą wyjaśniać różnice pomiędzy zastosowanymi reformulacjami oraz różnicami wynikającymi z rodzaju zastosowanego zamiennika tłuszczu (Barros i wsp., 2021).

Tab. 16. Wpływ liofilizowanych emulsji hydrożelowych z enkapsulowanym olejem acai jako substytutem tłuszczu na parametry tekstury (TPA) grillowanych burgerów w 0 i 7 dniu przechowywania.

| Dzień przechowywania | Wariant | Twardość (N)              | Sprężystość (-)         | Kohezyjność (-)          |
|----------------------|---------|---------------------------|-------------------------|--------------------------|
| 0                    | CO      | 75,82±5,07 <sup>Ca</sup>  | 0,53±0,06 <sup>C</sup>  | 0,39±0,03 <sup>B</sup>   |
|                      | S-25%   | 31,44±2,31 <sup>Ba</sup>  | 0,48±0,03 <sup>BC</sup> | 0,36±0,02 <sup>Bb</sup>  |
|                      | S-50%   | 20,64±7,07 <sup>BA</sup>  | 0,39±0,07 <sup>B</sup>  | 0,33±0,02 <sup>Bb</sup>  |
|                      | S-75%   | 10,29±0,47 <sup>Aa</sup>  | 0,2±0,01 <sup>A</sup>   | 0,23±0,01 <sup>Aa</sup>  |
|                      | S-100%  | 10,21±0,68 <sup>Aa</sup>  | 0,26±0,04 <sup>A</sup>  | 0,25±0,03 <sup>A</sup>   |
| 7                    | CO      | 102,36±1,94 <sup>Db</sup> | 0,52±0,01 <sup>B</sup>  | 0,38±0 <sup>C</sup>      |
|                      | S-25%   | 44,83±3,25 <sup>Cb</sup>  | 0,4±0,04 <sup>A</sup>   | 0,3±0,02 <sup>Ba</sup>   |
|                      | S-50%   | 27,36±4,57 <sup>B</sup>   | 0,38±0,05 <sup>AB</sup> | 0,28±0,03 <sup>ABa</sup> |
|                      | S-75%   | 20,57±3,13 <sup>BAb</sup> | 0,34±0,09 <sup>AB</sup> | 0,29±0,03 <sup>ABb</sup> |
|                      | S-100%  | 18,63±1,07 <sup>Ab</sup>  | 0,27±0,06 <sup>A</sup>  | 0,24±0,02 <sup>A</sup>   |
| SEM                  |         | 5,366                     | 0,021                   | 0,011                    |

<sup>A-E</sup> wartości średnie między wariantami w tym samym dniu przechowywania, oznaczone różnymi literami oznaczają istotne różnice, <sup>a- b</sup>-wartości średnie między dniem przechowywania w tym samym wariantcie, oznaczone różnymi literami oznaczają istotne różnice

Rys. 13 przedstawia wpływ zamiennika tłuszczu w formie liofilizowanej hydrożelowej emulsji z kapsułkowanym olejem z acai na parametry zmiany masy podczas obróbki termicznej. Straty podczas grillowania są głównym problemem przy zastępowaniu tłuszczu zwierzęcego olejami w produktach mięsnych (Keenan i wsp., 2015). Największe zmiany masy w trakcie obróbki termicznej (grillowania) burgerów wołowych wystąpiły w CO zarówno w 0 jak i 7 dniu przechowywania (34%, 31%, odpowiednio). Co więcej parametr ten uległ znacznemu zmniejszeniu (0 dzień przechowywania;  $p < 0,05$ ) w zależności od stopnia zastąpienia tłuszczu zwierzęcego (S-25%, S-50%, S-75%, S-100%). Trend ten potwierdzają badania przeprowadzone przez Moghtadaei i wsp., (2021), którzy zastosowali, jako zamiennik tłuszczu oleożel etylocelulozowy. Obserwowany spadek wartości zmiany masy termicznej w trakcie przechowywania obserwowany dla wszystkich zastosowanych reformulacji, prawdopodobnie jest związany z utratą wody własnej podczas przechowywania jak i zdolnością liofilizowanej hydrożelowej emulsji do wiązania wody.

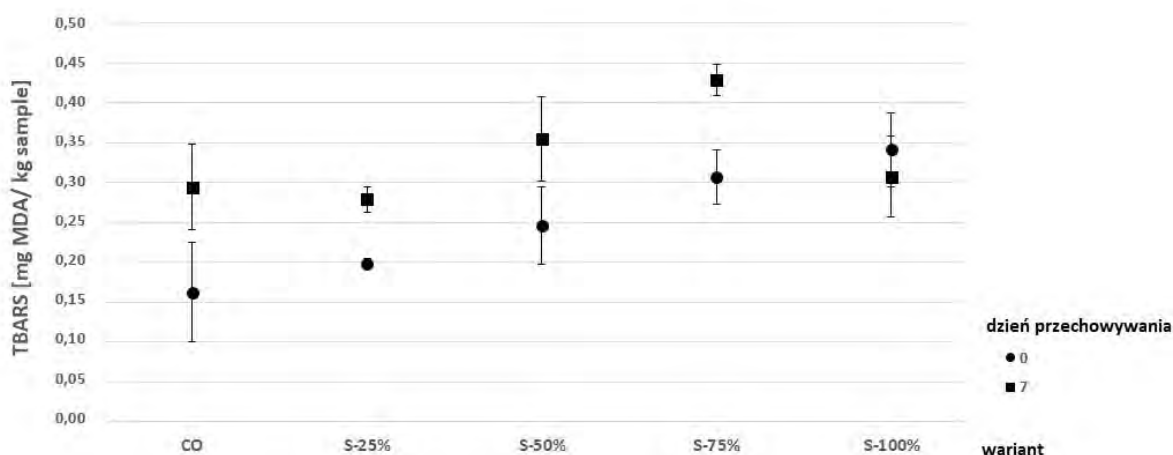


Rys. 13. Analiza termicznej zmiany masy burgerów w 0 oraz 7 dniu przechowywania. <sup>A-C</sup> wartości średnie między wariantami w tym samym dniu przechowywania, oznaczone różnymi literami oznaczają istotne różnice, <sup>a-b</sup> wartości średnie między dniem przechowywania w tym samym wariantcie, oznaczone różnymi literami oznaczają istotne różnice.

### Analiza oksydacji lipidów

Wyniki analizy oksydacji lipidów w burgerze z substytutami tłuszczu przedstawia rys. 14. Otrzymane wartości dla analizy TBARS wynosiły od 0,162 (CO, dzień 0) do 0,429 mg MDA/ kg próbki (S-75%, dzień 7). Kluczowymi czynnikami w procesie utleniania lipidów w produktach mięsnych jest zawartość tłuszczu oraz skład profilu kwasów tłuszczowych (Dominguez i wsp., 2019). W związku z tym otrzymane różnice w wartościach TBARS (dzień 0) w reformulowanych burgerach, mogą wynikać z różnych proporcji zastosowanego tłuszczu, a co za tym idzie zmiennego profilu kwasów tłuszczowych. W przeprowadzonych badaniach stopień oksydacji tłuszczu po 7 dniach przechowywania był wyższy dla reformulacji z 50%, 75% oraz 100% zastąpieniem tłuszczu wołowego (S-50%, S-75%, S-100%). Wynik ten jest prawdopodobnie związany z różną podatnością kwasów tłuszczowych na proces oksydacyjny. Otrzymany wynik potwierdzają badania przeprowadzone przez Lorenzo i wsp., 2013, Fonseca i wsp., 2015 oraz Hautrive i wsp., 2019, w których zaobserwowano wzrost stopnia utleniania tłuszczu w produktach mięsnych o zwiększonej ilości nienasyconych kwasów tłuszczowych w stosunku do nasyconych kwasów tłuszczowych. Uzyskane wyniki (S-100%) przedstawiają, że strukturyzacja płynnego tłuszczu w formie liofilizowanej hydrożelowej emulsji z rocesem kapsułkowania, przyczyniła się do spowolnienia procesu oksydacji. Proces oksydacji lipidów prowadzi do obniżenia właściwości oraz jakości sensorycznej produktów mięsnych. Związane jest to z rozszerzeniem się zakresów zapachów oraz smaków ubocznych (jełczenie), jak

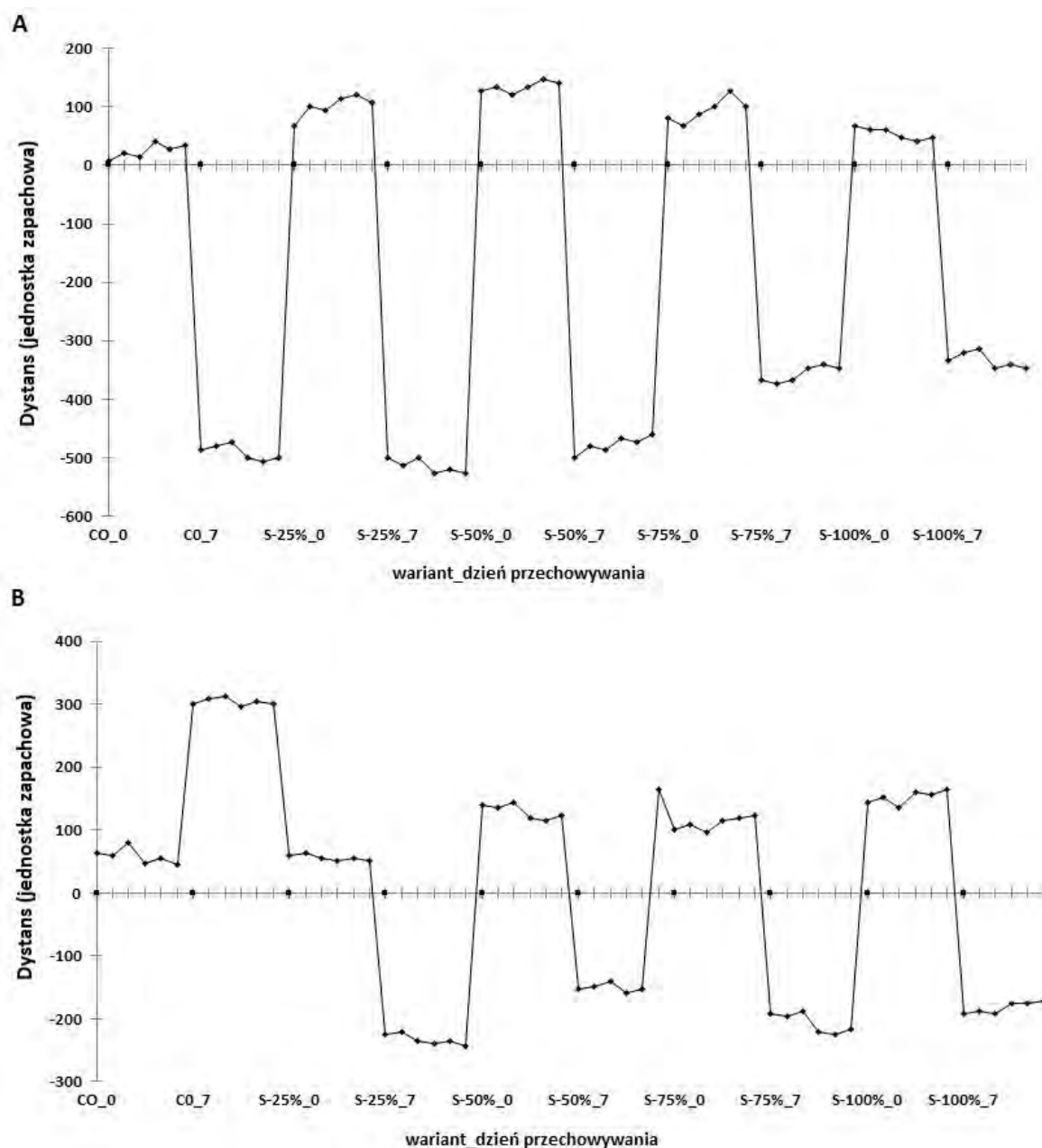
również obniżeniem parametru barwy, tekstury, które wpływają na akceptację produktu przez konsumenta (Amoli i wsp., 2021, Dominguez i wsp., 2019). Wartość progowa mówiąca o utracie jakości sensorycznej żywności wynosi  $>1,0$  mg MDA/ kg burgerów. Z przeprowadzonych badań wynika, że wraz z czasem przechowywania wartości TBARS wzrastały, bez względu na zastosowaną reformulację burgerów. Nie mniej jednak otrzymane wartości oksydacji lipidów po 7 dniach przechowywania ( $0,279 - 0,429$  mg MDA/ kg próbki) były znacząco poniżej wyznaczonej wartości progowej.



Rys. 14. Analiza utleniania lipidów (TBARS) w surowych burgerach z udziałem substytutem tłuszczu (lioofilizowana hydrożelowa emulsja z kapsułkowanym olejem z acai) w 0 i 7 dniu przechowywania. CO z zastosowaniem łożu wołowego (kontrola, 0% substytutu tłuszczu), S-25%, S-50%, S-75%, S-100% oznacza odpowiednio zastąpienie tłuszczu wołowego w 25%, 50%, 75% i 100% substytutem tłuszczu zawierającym kapsułkowany olej roślinny z jagód acai.

### Analiza profilu związków lotnych

Wykres statystycznej analizy jakości różnic w profilach związków lotnych w reformulowanych burgeryów w 0 oraz 7 dniu przechowywania przedstawia rys. 15. Analiza surowych burgerów w 0 oraz 7 dniu przechowywania wskazuje, że wraz z czasem przechowywania zachodzą znaczące zmiany, związane ze zmianą profilu związków lotnych.

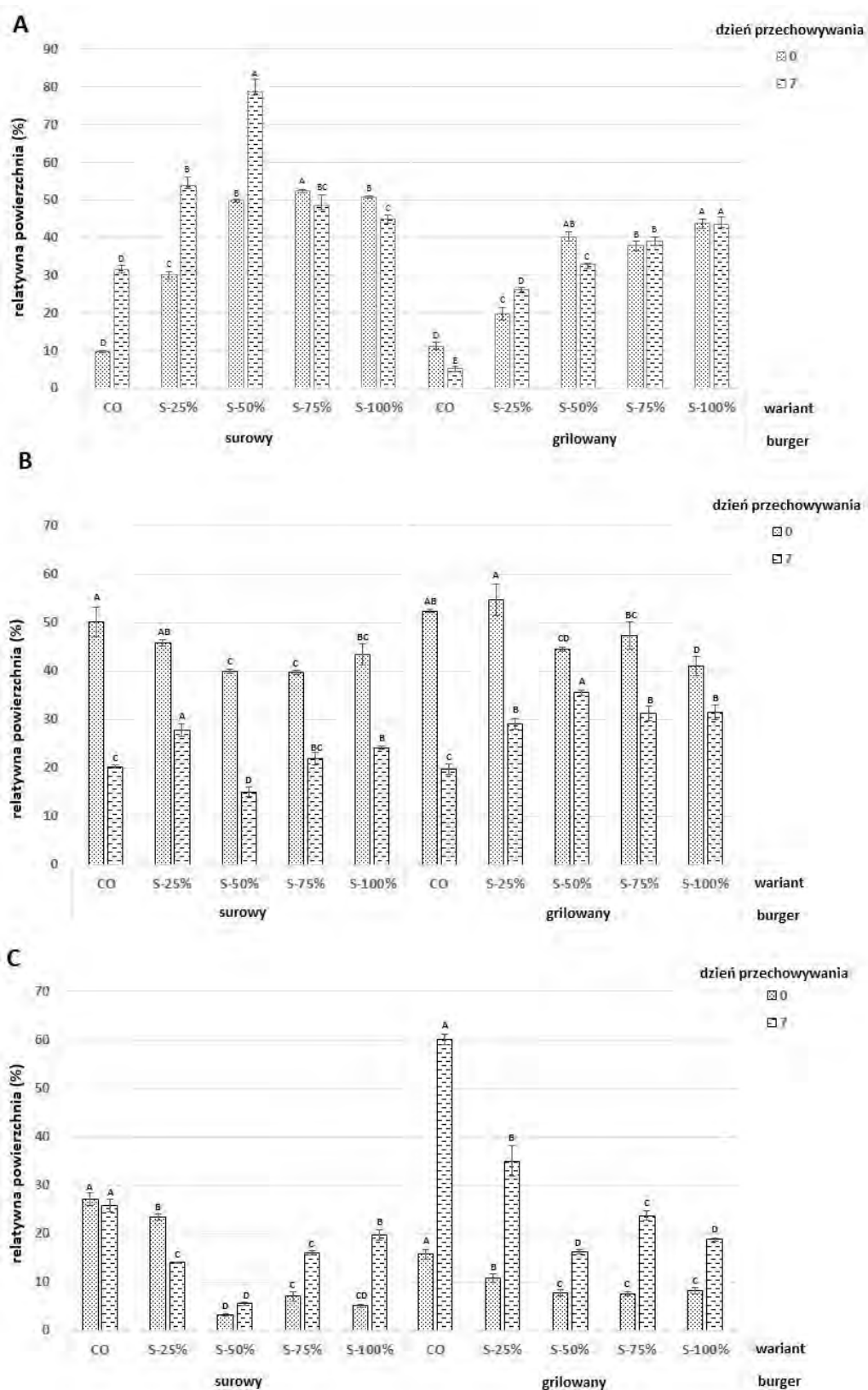


Rys. 15. Zmiany w profilu związków lotnych burgerów surowych (A) i grillowanych (B) po 0 i 7 dniach przechowywania.

Z przeprowadzonej analizy wynika, że w dniu zerowym wariant kontrolny (CO) charakteryzował się najmniejszą liczbą jednostek zapachowych w porównaniu do pozostałych zastosowanych reformulacji burgerów. Zastąpienie łożu substytutem tłuszczu przyczyniło się do wzrostu ilości jednostek zapachowych, największą liczbę odnotowano dla wariantu S-50%. Jednakże porównując liczbę jednostek zapachowych w wariantach CO oraz S-100% w burgerach surowych wynika, że przemiany związane z czasem przechowywania w przypadku łożu generują więcej związków lotnych niż zastosowany substytut tłuszczu. W przypadku analizy profilu związków lotnych w burgerach grillowanych w dniu

0 reformulacje CO oraz S-25% charakteryzowały się zbliżoną liczbą jednostek zapachowych. Zastąpienie tłuszczu  $\geq 50\%$  liofilizowaną hydrożelową emulsją z kapsułkowanym olejem z aćai znacząco wpłynęło na zwiększenie jednostek zapachowych w burgerach grillowanych w dniu 0. Analiza zachodzących zmian w burgerach grillowanych, po 7 dniach przechowywania, wskazuje, że profil zapachowy CO znacząco różnił się od profilu S-25%, S-50%, S-75% oraz S-100%. Ponadto, proces obróbki termicznej znacząco obniżył odległość jednostek zapachowych w burgerach grillowanych w porównaniu do burgrów surowych. W przypadku analizy burgerów grillowanych obserwujemy odwrotną tendencję, niż w przypadku burgerów surowych, wraz ze wzrostem zastąpienia łożu liofilizowanym hydrożelem odległość jednostek zapachowych się zwiększa. Głównymi grupami związków powstającymi w procesie utleniania lipidów są aldehydy, ketony alkohole, estry oraz kwasy. Powstają one podczas reakcji nienasyconych kwasów tłuszczowych z tlenem cząsteczkowym, w efekcie powstają wodoronadtlenki, które są niestabilne i ulegają rozkładowi (Ladikos i Lougovis 1990). Rys. 16. przedstawia relatywną powierzchnię pików (%) głównych grup związków lotnych aldehydy (rys. 3C), ketony (rys. 3A), alkohole (rys. 3B) w burgerach surowych oraz grillowanych z reformulacjami w dniu 0 oraz po 7 dniach przechowywania. Z przedstawionych danych wynika, że zastosowany substytut tłuszczu (S-100%) generuje większą liczbę związków lotnych należących do grupy ketonów niż CO, zarówno dla burgeryów surowych, jak i grillowanych w 0 oraz 7 dniu przechowywania. Niemniej jednak, w burgeryówch surowych wariant S-50%, charakteryzował się największą liczbą związków ketonowych. W burgerach grillowanych bez względu na czas przechowywania liczba związków ketonowych utrzymywała się na podobnym poziomie (S-75%, S-100%,  $p < 0.05$ ). Zawartość związków lotnych należących do grupy alkoholi w burgerach grillowanych była znacząco niższa niż w przypadku burgerów surowych. W burgerach surowych najmniejszą liczbą związków należących do grupy alkoholi zaobserwowano dla wariantu S-50% (dzień 0 oraz 7), a największą dla wariantu kontrolnego (dzień 0). Natomiast w burgerach grillowanych zwiększyła się znacząco liczba związków aldehydowych w dniu 7, zwłaszcza w przypadku kontroli (60%) Ta obserwacja jest zgodna z badaniami Narsaiah i wsp., (2016), które potwierdziły zwiększony udział aldehydów w profilu lotnych związków wynikający z reakcji oksydacji tłuszczów oraz procesów termicznych, takich jak degradacja Streckera w trakcie grillowania.

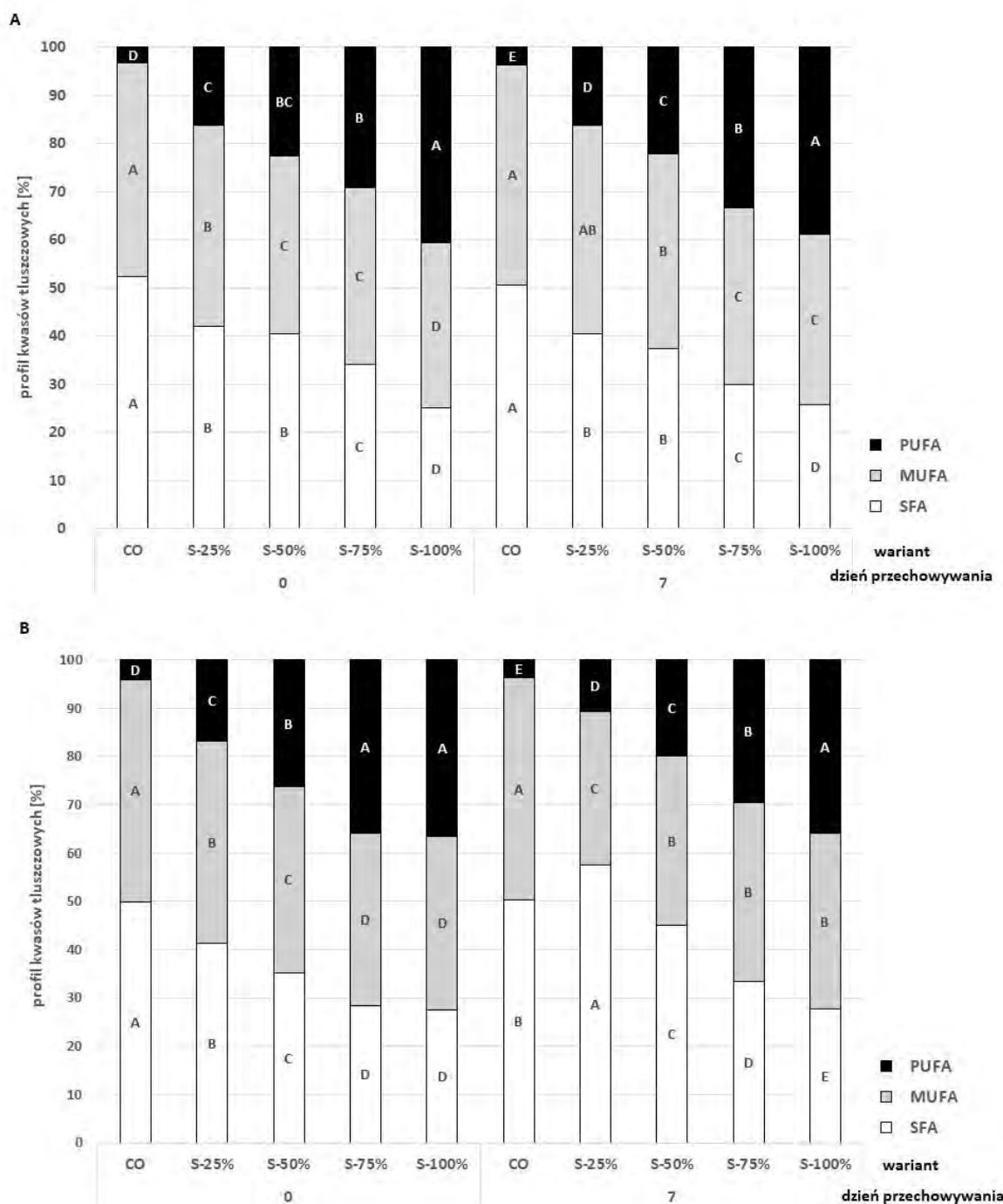




Rys. 16. Relatywna powierzchnia pików (%) trzech głównych grup związków lotnych: ketonów (A), alkoholi (B) i aldehydów (C) w burgerach wołowych z substytutem tłuszczu z kapsułkowanym olejem z acai, w 0 i 7 dniu przechowywania. <sup>A-D</sup> wartości średnie między wariantami w tym samym dniu przechowywania, różne litery oznaczają istotną różnicę.

## **Analiza profilu kwasów tłuszczowych i wskaźników zdrowotności**

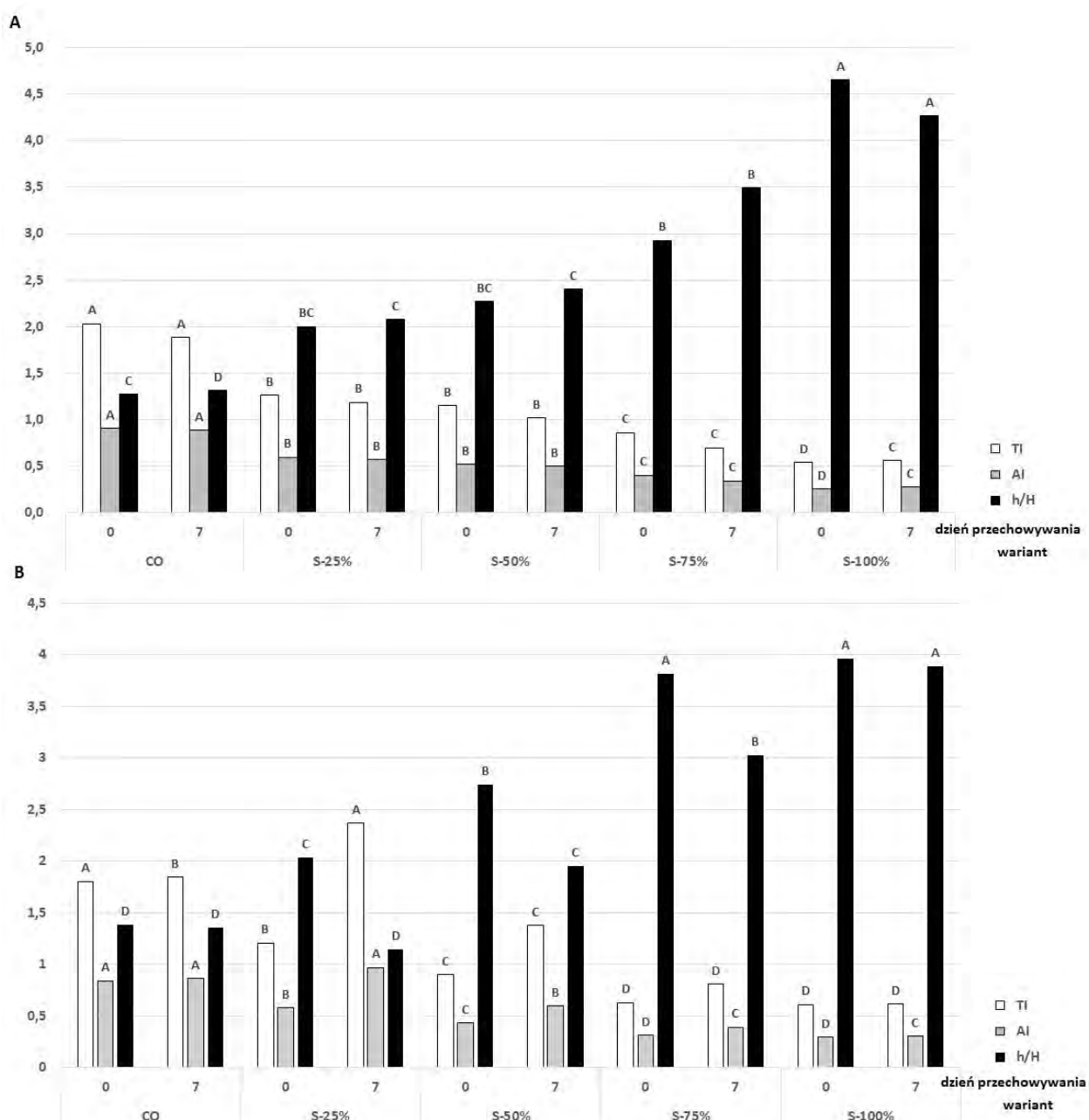
Analizę profilu kwasów tłuszczowych SFA, PUFA, MUFA w burgerach grillowanych oraz surowych w 0 oraz 7 dniu przechowywania przedstawia rys. 17. Zastosowanie substytutu tłuszczu w formie kapsułkowanego oleju z acai w zliofilizowanej hydrożelowej emulsji skutkowało poprawą profilu kwasów tłuszczowych. Wariant CO charakteryzował się profilem 52,5% SFA, 44,4% MUFA, 3,1% PUFA, zaobserwowano, że wraz ze wzrostem stopnia zastąpienia tłuszczu profil kwasów tłuszczowych uległ zmianie ( $p < 0,05$ ). Burgery S-100% charakteryzowały się najwyższą zawartością PUFA (25,0% SFA, 34,4% MUFA, 40,6% PUFA). Przeprowadzona analiza profilu kwasów tłuszczowych wykazała, że wraz z czasem przechowywania zawartość PUFA zmniejsza się. Jest to wynikiem procesów oksydacyjnych zachodzących w trakcie przechowywania, podczas których wolne rodniki generują oksydację podwójnych wiązań w kwasach tłuszczowych (PUFA) (Dominquez i wsp., 2019). Obróbka termiczna np. grillowanie w znaczącym stopniu wpływa na profil kwasów tłuszczowych w efekcie poprzez reakcję Maillarda. Z przeprowadzonej analizy wynika, że zastosowany zamiennik tłuszczu przyczynił się do poprawy profilu kwasów tłuszczowych w burgerach grillowanych. Wraz ze wzrostem zastąpienia tłuszczu zwierzęcego wartość PUFA wzrasta z 4,1% dla CO do 36,5% dla S-100%. PUFA oraz MUFA znane są z redukcji poziomu cholesterolu w osoczu krwi, co w efekcie wpływa na zapobieganie chorobom układu sercowo-naczyniowym (Seleni i wsp., 2016). Obniżenie wartości SFA z punktu widzenia konsumenta jest niezwykle istotne, gdyż SFA są uważane za kwasy tłuszczowe niekorzystne dla zdrowia człowieka. Międzynarodowe organizacje takie jak USDA (United States Department of Agriculture), FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations) oraz EFSA (European Food Safety Agency) rekomendują jak najniższe spożycie SFA (USDA 2015, FAO 2010, EFSA 2017). Zastosowanie zamiennika tłuszczu zredukowało SFA o 22,6% dla burgerów grillowanych (50,3%, 27% odpowiednio dla CO, S-100%,  $p < 0,05$ ). Różnice pomiędzy profilem kwasów tłuszczowych w surowych a grillowanych burgerach, wynikają z mechanizmów zachodzących podczas obróbki termicznej burgerów, podczas której dochodzi do utraty wody, tłuszczu, utleniania, hydrolizy czy polimeryzacji cząstek tracylogliceroli (Seleni i wsp., 2016).



Rys. 17. Wpływ udziału substytutu tłuszczu (hydrożelowej emulsji z kapsułkowanym olejem acai) na profil kwasów tłuszczowych surowych (A) i grillowanych (B) burgerów w 0 i 7 dniu przechowywania w warunkach chłodniczych. <sup>A-D</sup> wartości średnie między wariantami w tym samym dniu przechowywania, przy czym różne litery oznaczają istotną różnicę.

Oprócz oceny profilu kwasów tłuszczowych, jakość odżywczą kwasów można ocenić za pomocą wskaźników takich jak PUFA/SFA, AI, TI, h/H. Wskaźniki te uwzględniają różne działanie (tłumiące oraz promujące) kwasów tłuszczowych. SFA, które są trombogenne nie są tożsame z SFA aterogennymi, jak i również MUFA, PUFA wykazują różne stopnie ochrony

przed chorobami sercowo-naczyniowymi (zakrzepicą oraz miażdżycą) (Ulbricht i Southgate, 1991). Zalecane jest spożywanie produktów o niskim poziomie indeksu aterogenności i trombogenności przy jednoczesnym jak najwyższym stosunkiem h/H (Carvalho i wsp., 2019). Natomiast w przypadku stosunku PUFA:SFA zaleca się by stosunek ten wynosił  $>0,45$ , gdyż niższa wartość może się przyczyniać do rozwoju chorób sercowo naczyniowych (Selani i wsp., 2016). Efekt zastosowania substytutu tłuszczu na wskaźniki żywieniowe przedstawia rys. 18. W przeprowadzonym doświadczeniu stosunek ten został znacząco ( $p<0,05$ ) podniesiony, dla CO wynosił 0,06 natomiast dla zastosowanych reformulacji od 0,38 (S-25%) do 1,3 (S-100%). Stosunek ten wzrastał wraz ze wzrostem udziału zastąpienia tłuszczu. Co więcej wariant kontrolny w burgerach surowych charakteryzował się w dniu 0 wartościami dla Tl, Al, h/H 2,03; 0,9; 1,29; odpowiednio. Zastosowanie substytutu tłuszczu z kapsułkowanym olejem z ąci poprawiło wartość zdrowotną burgeryów wołowych dla Tl, Al, h/H, odpowiednio 0,54; 0,25; 4,65. Wartości wskaźników znacząco ( $p<0,05$ ) wzrosły wraz ze wzrostem zastąpienia tłuszczu zwierzęcego. Podobną tendencję obserwowano również w przypadku burgerów grillowanych, gdzie wariant S-100% charakteryzował się najlepszymi parametrami wskaźników żywieniowych. W zależności rodzaju zastosowanego źródła tłuszczu roślinnego, substytuty tłuszczu mogą w różnym stopniu wpływać na stopień wartości indeksów zdrowotnych (Carvalho i wsp., 2019, Selani i wsp., 2016).



Rys. 18. Wpływ udziału substytutu tłuszczu (hydrożelowej emulsji z kapsułkowanym olejem acai) na wskaźniki zdrowotności surowych (A) i grillowanych (B) burgerów w 0 i 7 dniu przechowywania w warunkach chłodniczych. <sup>A-D</sup> wartości średnie między wariantami w tym samym dniu przechowywania, przy czym różne litery oznaczają istotną różnicę.

## Analiza korelacji w burgerach grillowanych pomiędzy analizowanymi parametrami chemicznymi oraz fizycznymi

Z przeprowadzonej analizy korelacji przedstawionej w tab. 16 wynika wysoka istotność ujemnej korelacji pomiędzy SFA, MUFA a zawartością związków lotnych należących do grupy ketonów (-0,78; -0,75;  $P < 0,05$ ; odpowiednio). Natomiast pozytywną korelację zaobserwowano dla PUFA i związków ketonowych (0,93;  $p < 0,05$ ). Co więcej istotną ujemną zależność wykazano dla zawartości SFA oraz PUFA. Związane jest to prawdopodobnie z oksydacją kwasów tłuszczowych pod wpływem, których podwójne wiązania zostają redukowane, aż do momentu nasycenia. Analiza korelacji wykazała również pozytywną korelację pomiędzy twardością (analiza TPA) a sprężystością (analiza TPA). Analiza korelacji barwy  $L^*$  wykazała wysoką pozytywną korelację z parametrami barwy  $a^*$  oraz  $b^*$  (0,86; 0,73;  $p < 0,05$ ; odpowiednio). Podobne zależności uzyskano w poprzednich badaniach przeprowadzonych przez Hanula i wsp., (2022), w których obiektem badań był hydrożel emulsyjny z kapsułkowanym olejem. Co więcej parametr barwy pH jest ujemnie skorelowany z związkami lotnymi pochodzącymi z grupy alkoholi (-0,8;  $p < 0,05$ ).

Tab. 16. Analiza korelacji pomiędzy profilem kwasów tłuszczowych (SFA, MUFA i PUFA), parametrami barwy ( $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$  i BI) a WHC, pH, zmiana masy termicznej oraz przechowalniczej, TBARS oraz parametrami TPA (sprężystość, twardość) w burgerach grillowanych.

|       | FS     | FM     | FP     | TT     | TS     | $L^*$  | $a^*$ | $b^*$  | pH     | EAd   | EAk  | EK |
|-------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|-------|--------|--------|-------|------|----|
| FS    | 1      |        |        |        |        |        |       |        |        |       |      |    |
| FM    | 0,26   | 1      |        |        |        |        |       |        |        |       |      |    |
| FP    | -0,94* | -0,58  | 1      |        |        |        |       |        |        |       |      |    |
| TT    | 0,75*  | 0,73*  | -0,90* | 1      |        |        |       |        |        |       |      |    |
| TS    | 0,79*  | 0,72*  | -0,93* | 0,82*  | 1      |        |       |        |        |       |      |    |
| $L^*$ | 0,19   | -0,15  | -0,10  | 0,26   | -0,01  | 1      |       |        |        |       |      |    |
| $a^*$ | -0,87* | -0,55  | 0,93*  | -0,80* | -0,86* | 0,13   | 1     |        |        |       |      |    |
| $b^*$ | -0,21  | -0,51  | 0,36   | -0,24  | -0,4   | 0,86*  | 0,54  | 1      |        |       |      |    |
| pH    | 0,20   | -0,61  | 0,05   | -0,05  | -0,23  | 0,73*  | 0,09  | 0,76*  | 1      |       |      |    |
| EAd   | 0,60   | 0,30   | -0,61  | 0,78*  | 0,48   | 0,63   | -0,55 | 0,26   | 0,54   | 1     |      |    |
| EAk   | -0,22  | 0,18   | 0,12   | -0,32  | 0,01   | -0,86* | 0,00  | -0,75* | -0,83* | -0,8* | 1    |    |
| EK    | -0,78* | -0,75* | 0,93*  | -0,93* | -0,88* | -0,02  | 0,92* | 0,48   | 0,18   | -0,62 | 0,05 | 1  |

\*- $p \leq 0,05$ , FS-SFA, FM-MUFA, FP-PUFA, TT-twardość, TS- sprężystość, EAd-aldehydy, EAk- alkohole, EK-ketony

## 6. Wnioski i stwierdzenia

Na podstawie przeprowadzonych i przeanalizowanych badań i uzyskanych wyników sformułowano następujące wnioski i stwierdzenia:

1. Zastosowanie aktywnego opakowania z biofilem na bazie ekstraktu z acai i zeolitu redukuje wyciek przechowalniczy wody i spowalnia procesy brązowienia pieczarek oraz zmniejsza straty witaminy C w stosunku do obydwu grup kontrolnych (C, PVC).
2. Stwierdzono wysoką korelację pomiędzy jasnością barwy ( $L^*$ ), indeksem brązowienia (BI), zawartością związków bioaktywnych (TPC i witaminy C) oraz aktywnością przeciwutleniającą (DPPH, FRAP).
3. Stwierdzono, że aktywne opakowania pasywowane ekstraktem z acai i zeolitem może skutecznie hamować pogorszenie się jakości fizycznej i chemicznej pieczarek *Agaricus bisporus*.
4. Zgodnie z uzyskanymi wynikami udział ekstraktu z acai (3%) w kapsułkach polisacharydowych zmniejszył dynamikę procesów oksydacyjnych mierzoną analizą TBARS zachodzących w burgerach wołowych w trakcie przechowywania.
5. Na podstawie uzyskanych wyników stwierdzono, że zastosowana hydrożelowa emulsja sprzyjała obniżeniu wartości wskaźników odżywczych AI i TI, a także zwiększała ilość PUFA i stosunek h/H.
6. Zastosowana metoda odwadniania (liofilizacja) hydrożelowej emulsji z kapsułkowanym olejem z acai nie wpływała destrukcyjnie na kształt oraz strukturę kapsułek co potwierdziły wyniki analizy SEM.
7. Wykorzystanie liofilizowanej hydrożelowej emulsji z kapsułkowanym olejem miało istotny wpływ na poprawę wartości odżywczej burgerów, ponieważ zmniejszyło zawartość SFA oraz zwiększyło ilość PUFA. Wskaźniki aterogenności i trombogenności zostały znacząco obniżone odpowiednio o 0,5 i 1,2 ( $p < 0,05$ ). Z kolei wskaźnik h/H został zwiększony o 2,6.
8. Liofilizowany hydrożel z kapsułkowanym olejem z acai wykorzystany jako substytut łożu zmniejszał straty cieplne masy burgerów – we wszystkich badanych wariantach (25%, 50%, 75%, 100% substytucji).
9. Analiza profilu związków lotnych wykazała, że po 7 dniach przechowywania procesy zachodzące w tłuszczu wołowym generowały największą ilość związków lotnych należących do grupy ketonów. Zmiana odległości (jednostki zapachowej) w surowych

burgerach była najmniejsza w wariancie S-100% i wzrastała wraz ze wzrostem udziału tłuszczu zwierzęcego.

10. Badania wykazały, że liofilizowany hydrożel z kapsułkowanym olejem acai, jako substytut tłuszczu, może z powodzeniem zastąpić tłuszcz zwierzęcy tłuszczem roślinnym do 50%, poprawiając wskaźniki prozdrowotne burgerów wołowych.

Na podstawie przeprowadzonych badań i uzyskanych wyników zweryfikowano następujące hipotezy badawcze:

**pozytywnie:**

- H1. Aktywne opakowanie z udziałem 3% ekstraktu z jagód acai (*Euterpe olerace*) spowalnia niekorzystne procesy brązowienia w trakcie przechowywania *Agaricus bisporus*.
- H3. Udział ekstraktu z acai w kapsułce polisacharydowej zmniejsza szybkość procesów oksydacyjnych zachodzące w burgerach wołowych w trakcie przechowywania w warunkach chłodniczych.
- H4. Udział liofilizowanej hydrożelowej emulsji z kapsułkowanym olejem z jagód acai (*Euterpe olerace*) w burgerach wołowych spowalnia niekorzystne zmiany oksydacyjne tłuszczu oraz wpływa na poprawę profilu kwasów tłuszczowych.

**negatywnie:**

- H2. Aktywne opakowanie z udziałem 3% ekstraktu z jagód acai (*Euterpe olerace*) spowalnia niekorzystne procesy związane ze zmianą tekstury w trakcie przechowywania *Agaricus bisporus*.



## 7. Bibliografia

1. Alejandro, M., Astiasarán, I., Ansorena, D., Barbut, S. Using canola oil hydrogels and organogels to reduce saturated animal fat in meat batters. *Food Res. Int.*, 2019, 122, 129–136.
2. Avila-Sosa, R., Montero-Rodríguez, A.F., Aguilar-Alonso, P., Vera-López, O., Lazcano-Hernández, M., Morales-Medina, J.C., Navarro-Cruz, A.R. Antioxidant Properties of Amazonian Fruits: A Mini Review of In Vivo and In Vitro Studies. *Oxidative Med. Cell. Longev.*, 2019, 2019, 1-11.
3. Ayala, A., Muñoz, M.F., Argüelles, S. Lipid Peroxidation: Production, Metabolism, and Signaling Mechanisms of Malondialdehyde and 4-Hydroxy-2-Nonenal. *Oxid. Med. Cell. Longev.*, 2014, 360438.
4. Balogh, T., Szarka, A. A comparative study: Methods for the determination of ascorbic acid in small and middle sized food analytic laboratories. *Acta Aliment*, 2016, 45, 354–362.
5. Barco, H., Oribe-Garcia, I., Vargas-Viedma, M. V., Borges, C. E., Martín, C., Alonso-Vicario, A. A new methodology for facilitating food wastage quantification. Identifying gaps and data inconsistencies. *Journal of environmental management*, 2019, 234, 512-524.
6. Barrera, E.L., Hertel, T. Global food waste across the income spectrum: Implications for food prices, production and resource use. *Food Policy*, 2021, 98, 101874.
7. Barros, J.C., Munekata, P.E., Carvalho, F.A.L., Domínguez, R., Trindade, M.A., Pateiro, M., Lorenzo, J.M. Healthy beef burgers: Effect of animal fat replacement by algal and wheat germ oil emulsions. *Meat Science*, 2021, 173, 108396.
8. Barros, J.C., Munekata, P.E.S., de Carvalho, F.A.L., Pateiro, M., Barba, F.J., Domínguez, R., Trindade, M.A., Lorenzo, J.M. Use of tiger nut (*Cyperus esculentus* L.) oil emulsion as animal fat replacement in beef burgers. *Foods*, 2020, 9, 44.
9. Belwal, T., Dhyani, P., Bhatt, I.D., Rawal, R.S., Pande, V. Optimization extraction conditions for improving phenolic content and antioxidant activity in *Berberis asiatica* fruits using response surface methodology (RSM). *Food Chem.*, 2016, 207, 115–124.
10. Bernas, E. Comparison of the mechanism of enzymatic browning in frozen white and brown *A. bisporus*. *Eur. Food Res. Technol.*, 2018, 244, 1239–1248.

11. Bertolo, A.P., Kempka, A.P., Rigo, E., Sehn, G.A.R., Cavalleiro, D. Incorporation of natural and mechanically ruptured brewing yeast cells in beef burger to replace textured soy protein. *Journal of Food Science and Technology*, 2022, 59(3), 935-943.
12. Brodowska, M., Guzek, D., Kołota, A., Głąbska, D., Górską-Horczyzak, E., Wojtasik-Kalinowska, I., Weirzbicka, A. Effect of diet on oxidation and profile of volatile compounds of pork after freezing storage. *J. Food Nutr. Res.*, 2016, 55, 40–47.
13. Cano, Y., García-Zapateiro, L.A., Zárate, Y. Emulsiones alimentarias del tipo aceite en agua preparadas con harina con alto contenido proteico a partir de cabezas de camarón (*Penaeus vannamei*). *Ing. Investig.*, 2017, 37, 17–22.
14. Canuto, G.A.B., Xavier, A.A.O., Neves, L.C., Benassi, M.T. Physical and chemical characterization of fruit pulps from Amazonia and their correlation to free radical scavenger activity. *Rev. Bras. Frutic.*, 2010, 32, 1196–1205.
15. Carvalho, F.A.L., Pateiro, M., Domínguez, R., Barba-Orellana, S., Mattar, J., Rimac Brnčić, S., Barba, F.J., Lorenzo, J.M. Replacement of meat by spinach on physicochemical and nutritional properties of chicken burgers. *Journal of Food Processing and Preservation*, 2019, 43(5), e13935
16. Chen, J., Yang, J., Ma, L., Li, J., Shahzad, N., Kim, C.K. Structure-antioxidant activity relationship of methoxy, phenolic hydroxyl, and carboxylic acid groups of phenolic acids. *Sci. Rep.*, 2020, 10, 2611.
17. Chriboga, J.V., Elst, K., Camp, J.V., Vera, E., Ruales, J. Valorization of byproducts from tropical fruits: Extraction methodologies, applications, environmental, and economic assessment: A review (Part 1: General overview of the byproducts, traditional biorefinery practices, and possible applications). *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.*, 2020, 19, 405–447.
18. Delgado-Pando, G., Cofrades, S., Ruiz-Capillas, C., Triki, M., Jiménez-Colmenero, F. Enriched n-3 PUFA/konjac gel low-fat pork liver pâté: Lipid oxidation, microbiological properties and biogenic amine formation during chilling storage. *Meat Sci.*, 2012, 92, 762–767.
19. Djekic, I., Vunduk, J., Tomašević, I., Kozarski, M., Petrovic, P., Niksic, M., Pudja, P., Klaus, A. Total quality index of *Agaricus bisporus* mushrooms packed in modified atmosphere. *J. Sci. Food Agric.*, 2016, 97, 2675–2680.
20. Dokhanieh, A.Y., Aghdam, M.S. Postharvest browning alleviation of *Agaricus bisporus* using salicylic acid treatment. *Sci. Hortic.*, 2016, 207, 146–151.

21. Domínguez, R., Munekata, P. E., Pateiro, M., López-Fernández, O., & Lorenzo, J. M. Immobilization of oils using hydrogels as strategy to replace animal fats and improve the healthiness of meat products. *Current Opinion in Food Science*, 2021, 37, 135-144.
22. Earling, M., Beadle, T., Niemeyer, E.D. Açai Berry (*Euterpe oleracea*) Dietary Supplements: Variations in Anthocyanin and Flavonoid Concentrations, Phenolic Contents, and Antioxidant Properties. *Plant Foods Hum. Nutr.*, 2019, 74, 421–429.
23. EFSA Dietary Reference Values for nutrients Summary report. EFSA Support. Publ., 2017, 14, e15121E
24. FAO. Fat and fatty acid requirements for adults. In *Fats and Fatty Acids in Human Nutrition*, FAO: Rome, Italy, 2010, 91
25. Feng, T., Yang, M., Ma, B., Zhao, Y., Zhuang, H., Zhang, J., Chen, D. Volatile profiles of two genotype *Agaricus bisporus* species at different growth stages. *Food Res. Int.*, 2020, 140, 109761.
26. Ferreira, N.S.O., Rosset, M., Lima, G., Campelo, P.M.S., Macedo, R.E.F. Effect of adding *Brosimum gaudichaudii* and *Pyrostegia venusta* hydroalcoholic extracts on the oxidative stability of beef burgerys. *LWT*, 2019, 108, 145-152.
27. Filimonau, V., Nghiem, V.N., Wang, L. Food waste management in ethnic food restaurants. *Int. J. Hosp. Manag.*, 2021, 92, 102731.
28. Foggiano, D., Domínguez, R., Pateiro, M., Cittadini, A., Munekata, P.E., Campagnol, P.C., Fraqueza, M.J., Palo, P., Lorenzo, J.M. Use of Healthy Emulsion Hydrogels to Improve the Quality of Pork Burgerys. *Foods*, 2022, 11(4), 596.
29. Fonseca, S., Gómez, M., Domínguez, R., Lorenzo, J.M. Physicochemical and sensory properties of Celta dry-ripened “salchichón” as affected by fat content. *Grasas Aceites*, 2015, 66, e059.
30. Frolova, Y., Sobolev, R., Kochetkova, A. Influence of oil combinations on the structural properties of oleogels. *E3S Web Conf.*, 2021, 285, 05009.
31. Gantner, M., Stokowska, A. Nie tylko przyprawy przedłużają trwałość mięs. *Tech. Przetwórstwa Spożywczego*, 2015, 1, 86–90.
32. Gao, M., Feng, L., Jiang, T. Browning inhibition and quality preservation of button mushroom (*Agaricus bisporus*) by essential oils fumigation treatment. *Food Chem.*, 2014, 149, 107–113.

33. Gardner, K., Legako, J.F. Volatile flavor compounds vary by beef product type and degree of doneness. *J. Anim. Sci.*, 2018, 96, 4238–4250.
34. Ghaderi-Ghahfarokhi, M., Barzegar, M., Sahari, M.A., Azizi, M.H. Nanoencapsulation Approach to Improve Antimicrobial and Antioxidant Activity of Thyme Essential Oil in Beef Burgerys During Refrigerated Storage. *Food Bioprocess Technol.*, 2016, 9, 1187–1201.
35. Ghahremani-Majd, H., Dashti, F. Chemical Composition and Antioxidant Properties of Cultivated Button Mushrooms (*Agaricus bisporus*). *Hort. Environ. Biotechnol.*, 2015, 56, 376–382.
36. Górską-Horczyzak, E., Wojtasik-Kalinowska, I., Wierzbicka, A. Supplemental linseed oil, and antioxidants affect the fatty acid composition, oxidation and colour stability of frozen pork. *S. Afr. J. Anim. Sci.*, 2020, 50, 253–263
37. Goyal, A., Sharma, V., Upadhyay, N., Gill, S., Sihag, M. Flax and flaxseed oil: An ancient medicine & modern functional food. *J. Food Sci. Technol.*, 2014, 51, 1633–1653.
38. Grau, R., Hamm, R. Eine einfache Methode zur Bestimmung der Wasserbindung im Muskel. *Die Naturwissenschaften*, 1953, 40, 29–30.
39. Guo, Q., Gao, S., Sun, Y., Gao, Y., Wang, X., Zhang, Z. Antioxidant efficacy of rosemary ethanol extract in palm oil during frying and accelerated storage. *Ind. Crop. Prod.*, 2016, 94, 82–88.
40. Gutiérrez, L., Batlle, R., Sánchez, C., Nerín, C. New Approach to Study the Mechanism of Antimicrobial Protection of an Active. *Packaging. Foodborne Pathog. Dis.*, 2010, 7, 1063–1069.
41. Hanula, M., Szpicer, A., Górską-Horczyzak, E., Khachatryan, G., Pogorzelski, G., Pogorzelska-Nowicka, E., Poltorak, A. Hydrogel Emulsion with Encapsulated Safflower Oil Enriched with Açai Extract as a Novel Fat Substitute in Beef Burgerys Subjected to Storage in Cold Conditions. *Molecules*, 2022, 27(8), 2397.
42. Hanula, M., Wyrwisz, J., Moczowska, M., Horbańczuk, O. K., Pogorzelska-Nowicka, E., & Wierzbicka, A. Optimization of microwave and ultrasound extraction methods of açai berries in terms of the highest content of phenolic compounds and antioxidant activity. *Applied Sciences*, 2020, 10(23), 8325.
43. Hautrive, T.P., Piccolo, J., Rodrigues, A.S., Campagnol, P.C.B., Kubota, E.H. Effect of fat replacement by chitosan and golden flaxseed flour (wholemeal and defatted) on the quality of hamburgerys. *LWT Food Sci. Technol.*, 2019, 102, 403–410.

44. He, J., Liu, H., Balamurugan, S., Shao, S. Fatty acids and volatile flavor compounds in commercial plant-based burgers. *J. Food Sci.*, 2021, 86, 293–305.
45. Heck, R.T., Fagundes, M.B., Cichoski, A.J., de Menezes, C.R., Barin, J.S., Lorenzo, J.M., Wagner, R., Campagnol, P.C.B. Volatile compounds and sensory profile of burgers with 50% fat replacement by microparticles of chia oil enriched with rosemary. *Meat Sci.*, 2019, 148, 164–170.
46. Heck, R.T., Vendruscolo, R.G., Etchepare, M.D.A., Cichoski, A.J., de Menezes, C.R., Barin, J.S., Lorenzo, J.M., Wagner, R., Campagnol, P.C.B. Is it possible to produce a low-fat burger with a healthy  $n - 6/n - 3$  PUFA ratio without affecting the technological and sensory properties? *Meat Sci.*, 2017, 130, 16–25.
47. Hourant, P., Baetan, V., Morales, M.T., Meurens, M., Aparicio, R. Oil and Fat Classification by Selected Bands of Near-infrared Spectroscopy. *Appl. Spectrosc.*, 2000, 54, 1168–1174.
48. Hsu, A.F., Shieh, J.J., Bills, D.D., White, K. Inhibition of Mushroom Polyphenoloxidase by Ascorbic Acid Derivatives. *J. Food Sci.*, 1988, 53, 765–767.
49. Hu, Y.-H., Chen, C.-M., Xu, L., Cui, Y., Yu, X.-Y., Gao, H.-J., Wang, Q., Liu, K., Shi, Y., Chen, Q.-X. Postharvest application of 4-methoxy cinnamic acid for extending the shelf life of mushroom (*Agaricus bisporus*). *Postharvest Biol. Technol.*, 2015, 104, 33–41.
50. Huyut, Z., Beydemir, Ş.B., Gülçin, İ. Antioxidant and Antiradical Properties of Selected Flavonoids and Phenolic Compounds. *Biochem. Res. Int.*, 2017, 7616791.
51. Janani, N., Zare, E.N., Salimi, F., Makvandi, P. Antibacterial tragacanth gum-based nanocomposite films carrying ascorbic acid antioxidant for bioactive food packaging. *Carbohydr. Polym.*, 2020, 247, 116678.
52. Jaramillo, J.E.C.C., Carrillo Bautista, M.P., Alvarez Solano, O.A., Achenie, L.E., González Barrios, A.F. Impact of the mode of extraction on the lipidomic profile of oils obtained from selected Amazonian fruits. *Biomolecules*, 2019, 9(8), 329.
53. Jiménez-Colmenero, F., Triki, M., Herrero, A.M., Rodríguez-Salas, L., Ruiz-Capillas, C. Healthy oil combination stabilized in a konjac matrix as pork fat replacement in low-fat, PUFA-enriched, dry fermented sausages. *LWT Food Sci. Technol.*, 2013, 51, 158–163.

54. Jin, S., Hwang, J., Hur, S.J., Kim, G. Quality changes in fat-reduced sausages by partial replacing sodium chloride with other chloride salts during five weeks of refrigeration. *LWT Food Sci Technol.*, 2018, 97, 818–824.
55. Kachur, S., Lavie, C. J., De Schutter, A., Milani, R. V., & Ventura, H. O. Obesity and cardiovascular diseases. *Minerva Medica*, 2017, 108(3), 212-228.
56. Karakurt, G., Özkaya, B., Saka, I. Chemical composition and quality characteristics of cookies enriched with microfluidized flaxseed flour. *LWT Food Sci. Technol.*, 2022, 154, 112773.
57. Karwowska, M., Łaba, S., & Szczepański, K. Food Loss and Waste in Meat Sector—Why the Consumption Stage Generates the Most Losses?. *Sustainability*, 2021, 13(11), 6227.
58. Keenan, D.F., Resconi, V.C., Smyth, T.J., Botinestean, C., Lefranc, C., Kerry, J.P., Hamill, R.M. The effect of partial-fat substitutions with encapsulated and unencapsulated fish oils on the technological and eating quality of beef burgers over storage. *Meat Science*, 2015, 107, 75-85.
59. Ladikos, D., Lougovois, V. Lipid oxidation in muscle foods: A review. *Food chemistry*, 1990, 35(4), 295-314.
60. Lim, S.-H., Nam, H., Baek, H.-H. Aroma Characteristics of Açaí Berry. *Korean J. Food Sci. Technol.*, 2016, 48, 122–127.
61. Lin, X., Sun, D.-W. Research advances in browning of button mushroom (*Agaricus bisporus*): Affecting factors and controlling methods. *Trends Food Sci. Tech.*, 2019, 90, 63–75.
62. Lin, Z., Goddard, J. Photo-Curable Metal-Chelating Coatings Offer a Scalable Approach to Production of Antioxidant Active Packaging. *J. Food Sci.*, 2018, 83, 367–376.
63. Lorenzo, J.M., Munekata, P.E.S., Pateiro, M., Campagnol, P.C.B., Domínguez, R. Healthy Spanish salchichón enriched with encapsulated n – 3 long chain fatty acids in konjac glucomannan matrix. *Food Res. Int.*, 2016, 89, 289–295.
64. Lorenzo, J.M., Pateiro, M. Influence of fat content on Physico-chemical and oxidative stability of foal liver pâté. *Meat Sci.*, 2013, 95, 330–335.
65. Lucas González, R., Roldán-Verdu, A., Sayas-Barberá, E., Fernández-López, J., Pérez-Álvarez, J.A., Viuda-Martos, M. Assessment of emulsion gels formulated with chestnut (*Castanea sativa* M.) flour and chia (*Salvia hispanica* L) oil as partial fat replacers in pork burger formulation. *J. Sci. Food Agric.*, 2019, 100, 1265–1273.

66. Lucas, B.F., Zambiazzi, R.C., Costa, J.A.V. Biocompounds and physical properties of açai pulp dried by different methods. *LWT*, 2018, 98, 335–340.
67. Mamindla, S., Prasad, K.V.S.R.G., Bharathi, K. Herb-drug interactions: An overview of mechanisms and clinical aspects. *Int. J. Pharm. Sci. Res.*, 2016, 7, 3576.
68. Melo, P.S., Arrivetti, L.D.O.R., de Alencar, S.M., Skibsted, L.H. Antioxidative and prooxidative effects in food lipids and synergism with  $\alpha$ -tocopherol of açai seed extracts and grape rachis extracts. *Food Chem.*, 2016, 213, 440–449.
69. Moczowska, M., Karp, S., Horbanczuk, O.K., Hanula, M., Wyrwicz, J., Kurek, M.A. Effect of rosemary extract addition on oxidative stability and quality of hemp seed oil. *Food Bioprod. Process.*, 2020, 124, 33–47.
70. Moghtadaei, M., Soltanizadeh, N., Goli, S.A.H. Production of sesame oil oleogels based on beeswax and application as partial substitutes of animal fat in beef burger. *Food Res. Int.*, 2018, 108, 368–377.
71. Moghtadaei, M., Soltanizadeh, N., Goli, S.A.H., Sharifimehr, S. Physicochemical properties of beef burger after partial incorporation of ethylcellulose oleogel instead of animal fat. *J. Food Sci. Technol.*, 2021, 58, 4775–4784.
72. Mokhtar, S.M., Eldeeb, G.S.S. Impact of Mango Peel Extract on the Physicochemical Properties, Microbiological Stability and Sensory Characteristics of Beef Burgers During Cold Storage. *Egypt. J. Food Sci.*, 2020, 48, 245–258.
73. Montero-Prado, P., Bentayeb, K., Nerín, C. Pattern recognition of peach cultivars (*Prunus persica* L.) from their volatile components. *Food Chem.*, 2013, 138, 724–731.
74. Narsaiah, K., Biswas, A.K., Mandal, P.K. Nondestructive methods for carcass and meat quality evaluation in Meat Quality Analysis, Academic Press., 2020, 37-49.
75. Nasiri, F., Tarzi, B.G., Bassiri, A.R., Hoseini, S.E., Aminafshar, M. Comparative Study on the Main Chemical Composition of Button Mushroom's (*Agaricus bisporus*) Cap and Stipe. *J. Food Biosci. Technol.*, 2013, 3, 41–48.
76. Nimrouzi, M., Ruyvaran, M., Zamani, A., Nasiri, K., Akbari, A. Oil and extract of safflower seed improve fructose induced metabolic syndrome through modulating the homeostasis of trace elements, TNF- $\alpha$  and fatty acids metabolism. *J. Ethnopharmacol.*, 2020, 254, 112721.

77. Njus, D., Kelly, P.M., Tu, Y.-J., Schlegel, B. Ascorbic acid: The chemistry underlying its antioxidant properties. *Free Radic. Biol. Med.*, 2020, 159, 37–43.
78. Nowak, N., Grzebieniarz, W., Khachatryan, G., Khachatryan, K., Konieczna-Molenda, A., Krzan, M., Grzyb, J. Synthesis of Silver and Gold Nanoparticles in Sodium Alginate Matrix Enriched with Graphene Oxide and Investigation of Properties of the Obtained Thin Films. *Applied Sciences*, 2021, 11(9), 3857.
79. Ojeda, G.A., Sgroppo, S.C., Martín-Belloso, O., Soliva-Fortuny, R. Chitosan/tripolyphosphate nanoaggregates enhance the antibrowning effect of ascorbic acid on mushroom slices. *Postharvest Biol. Technol.*, 2019, 156, 110934.
80. Oliveira, S.R., Chacón-Madrid, K., Arruda, M.A.Z., Barbosa Junior, F. In Vitro Gastrointestinal Digestion to Evaluate the Total, Bioaccessible and Bioavailable Concentrations of Iron and Manganese in Açai (*Euterpe Oleracea* Mart.) Pulps. *J. Trace Elem. Med. Biol.*, 2019, 53, 27–33.
81. Omerović, N., Djisalov, M., Živojević, K., Mladenović, M., Vunduk, J., Milenković, I., Knežević, N.Ž., Gadžanski, I., Vidić, J. Antimicrobial nanoparticles and biodegradable polymer composites for active food packaging applications. *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.*, 2021, 20, 2428–2454.
82. Pacheco-Palencia, L.A., Mertens-Talcott, S., Talcott, S.T. Chemical composition, antioxidant properties, and thermal stability of a phytochemical enriched oil from Açai (*Euterpe oleracea* Mart.). *Journal of agricultural and food chemistry*, 2008, 56(12), 4631-4636.
83. Paglarini, C.S., Martini, S., Pollonio, M.A.R. Using emulsion gels made with sonicated soy protein isolate dispersions to replace fat in frankfurters. *LWT*, 2019, 99, 453-459.
84. Patinho, I., Selani, M.M., Saldaña, E., Bortoluzzi, A.C.T., Rios-Mera, J.D., da Silva, C.M., Kushida, M.M., Contreras-Castillo, C.J. *Agaricus bisporus* mushroom as partial fat replacer improves the sensory quality maintaining the instrumental characteristics of beef burger. *Meat Sci.*, 2020, 172, 108307.
85. Półtorak, A., Wyrwisz, J., Moczowska, M., Marcinkowska-Lesiak, M. The impact of the aging process on the components of texture of beef from different production systems. *Postępy Tech. Przetwórstw. Spożywczego*, 2014, 2, 112–119.



86. Rather, S.A., Masoodi, F.A., Akhter, R., Gani, A., Wani, S.M., Malik, A.H. Effects of guar gum as fat replacer on some quality parameters of mutton goshtaba, a traditional Indian meat product. *Small Rumin. Res.*, 2016, 137, 169–176.
87. Rezvankhah, A., Emam-Djomeh, Z., Askari, G. Encapsulation and delivery of bioactive compounds using spray and freeze-drying techniques: A review. *Drying Technology*, 2020, 38(1-2), 235-258.
88. Rodriguez, J., Martín, M. J., Ruiz, M. A., & Clares, B. Current encapsulation strategies for bioactive oils: From alimentary to pharmaceutical perspectives. *Food Research International*, 2016, 83, 41-59.
89. Rohman, A., Man, Y.B.C., Yusof, F.M. The Use of FTIR Spectroscopy and Chemometrics for Rapid Authentication of Extra Virgin Olive Oil. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 2014, 91, 207–213.
90. Rosa, P., Friedrich, M.L., Dos Santos, J., Librelotto, D.R.N., Maurer, L.H., Emanuelli, T., Silva, C.B., Adams, A.I.H. Desonide nanoencapsulation with açai oil as oil core: Physicochemical characterization, photostability study and in vitro phototoxicity evaluation. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 2019, 199, 111606.
91. Rutkowska, J., Antoniewska, A., Baranowski, D., Rasińska, E. Analiza profilu kwasów tłuszczowych wybranych olejów “nietypowych”. *Bromat. Chem. Toksykol.*, 2016, 3, 385–389.
92. Rutkowska, J., Antoniewska, A., Martinez-Pineda, M., Nawirska-Olszańska, A., Zbikowska, A., Baranowski, D. Black Chokeberry Fruit Polyphenols: A Valuable Addition to Reduce Lipid Oxidation of Muffins Containing Xylitol. *Antioxidants*, 2020, 9, 394.
93. Salamat, R., Ghassemzadeh, H.R., Ranjbar, F., Jalali, A., Mahajan, P., Herppich, W.B., Mellmann, J. The effect of additional packaging barrier, air moment and cooling rate on quality parameters of button mushroom (*Agaricus bisporus*). *Food Packag. Shelf Life*, 2020, 23, 100448.
94. Salcedo-Sandoval, L., Cofrades, S., Ruiz-Capillas, C., Jiménez-Colmenero, F. Effect of cooking method on the fatty acid content of reduced-fat and PUFA-enriched pork patties formulated with a konjac-based oil bulking system. *Meat Sci.*, 2014, 98, 795–803.
95. Sánchez-Zapata, E., Muñoz, C.M., Fuentes, E., Fernández-López, J., Sendra, E., Sayas, E., Navarro, C., Pérez-Alvarez, J.A. Effect of tiger nut fibre on quality characteristics of pork burgery. *Meat Sci.*, 2010, 85, 70–76.

96. Saw, A.K.-C., Yam, W., Wong, K.-C., Lai, C.A. Comparative Study of the Volatile Constituents of Southeast Asian *Coffea arabica*, *Coffea liberica* and *Coffea robusta* Green Beans and their Antioxidant Activities. *J. Essent. Oil Bear. Plants*, 2015, 18, 64–73.
97. Selani, M.M., Shirado, G.A., Margiotta, G.B., Rasera, M.L., Marabesi, A.C., Piedade, S.M., Contreras-Castillo, C.J., Canniatti-Brazaca, S.G. Pineapple by-product and canola oil as partial fat replacers in low-fat beef burger: Effects on oxidative stability, cholesterol content and fatty acid profile. *Meat science*, 2016, 115, 9-15.
98. Shah, K., Kumar, R.G., Verma, S., Dubey, R. Effect of cadmium on lipid peroxidation, superoxide anion generation and activities of antioxidant enzymes in growing rice seedlings. *Plant Sci.*, 2001, 161, 1135–1144.
99. Sharaf, A.M., Ebrahiam, M.E., Ammar, M.S., Abd El-Ghany, M.E. Influence of using moringa meal flour as meat extender on quality characteristics of beef burger patties during frozen storage. *World Journal of Dairy & Food Sciences*, 2009, 4(1), 32-40.
100. Shekari, A., Hassani, R.N., Aghdam, M.S., Rezaee, M., Jannatizadeh, A. The effects of melatonin treatment on cap browning and biochemical attributes of *Agaricus bisporus* during low temperature storage. *Food Chem.*, 2021, 348, 129074.
101. Sikora, M., Adamczyk, G., Krystijan, M., Dobosz, A., Tomasik, P., Berski, W., Lukasiewicz, M., Izak, P. Thixotropic properties of normal potato starch depending on the degree of the granules pasting. *Carbohydr. Polym.*, 2015, 121, 254–264.
102. Singleton, V.L., Rossi, J.A. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *Am. J. Enol. Vitic.*, 1965, 16, 144–158.
103. Soares, K.S., Souza, M.P., Silva-Filho, E.C., Barud, H.S., Ribeiro, C.A., Santos, D.D., Rocha, K.N.S., Moura, J.F.P., Oliveira, R.L., Bezerra, L.R. Effect of Edible Onion (*Allium cepa* L.) Film on Quality, Sensory Properties and Shelf Life of Beef Burger Patties. *Molecules*, 2021, 26(23), 7202.
104. Spada, P.D., Dani, C., Bortolini, G.V., Funchal, C., Henriques, J.A., Salvador, M. Frozen Fruit Pulp of *Euterpe oleracea* Mart. (Açaí) Prevents Hydrogen Peroxide-Induced Damage in the Cerebral Cortex, Cerebellum, and Hippocampus of Rats. *J. Med. Food*, 2009, 12, 1084–1088.
105. Summo, C., De Angelis, D., Difonzo, G., Caponio, F., Pasqualone, A. Effectiveness of Oat-Hull-Based Ingredient as Fat Replacer to Produce Low Fat Burger with High Beta-Glucans Content. *Foods*, 2020, 9, 1057.

106. Tokarz, K.M., Makowski, W., Tokarz, B., Hanula, M., Sitek, E., Muszyńska, E., Jędrzejczyk, R., Banasiuk, R., Chajec, Ł., Mazur, S. Can Ceylon Leadwort (*Plumbago zeylanica* L.) Acclimate to Lead Toxicity?—Studies of Photosynthetic Apparatus Efficiency. *Int. J. Mol. Sci.*, 2020, 21, 1866.
107. Ulbricht, T.L.V., Southgate, D.A.T. Coronary heart disease: Seven dietary factors. *Lancet*, 1991, 338, 985–992.
108. USDA. 2015-2020 Dietary Guidelines for Americans, USDA: Washington, DC, USA, 2015.
109. Vahdatzadeh, M., Splivallo, R. Improving truffle mycelium flavour through strain selection targeting volatiles of the Ehrlich pathway. *Sci. Rep.*, 2018, 8, 9304.
110. Vargas-Ramella, M., Munekata, P.E.S., Pateiro, M., Franco, D., Campagnol, P.C.B., Tomasevic, I., Domínguez, R., Lorenzo, J.M. Physicochemical Composition and Nutritional Properties of Deer Burgery Enhanced with Healthier Oils. *Foods*, 2020, 9, 571.
111. Viana, D.S., de Carvalho, L.M.J., Moura, M.R.L., Peixoto, J.C., de Carvalho, J.L.V. Biochemical assessment of oxidative stress by the use of açaí (*Euterpe oleracea* Martius) gel in physically active individuals. *Food Sci. Technol.*, 2017, 37, 90–96.
112. Vunduk, J., Kozarski, M., Djekic, I., Tomašević, I., Klaus, A. Effect of modified atmosphere packaging on selected functional characteristics of *Agaricus bisporus*. *Eur. Food Res. Technol.*, 2021, 247, 829–838.
113. Walkowiak-Tomczak, D., Idaszewska, N., Bieńczak, K., Kómocho, W. The Effect of Mechanical Actions Occurring during Transport on Physicochemical Changes in *Agaricus bisporus* Mushrooms. *Sustainability*, 2020, 12, 4993.
114. Wang, Q., Chu, L., Kou, L. UV-C Treatment maintains quality and delays senescence of oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*). *Sci. Hortic.*, 2017, 225, 380–385.
115. Wang, W., Dong, L., Zhang, Y., Yu, H., Wang, S. Reduction of the Heterocyclic Amines in Grilled Beef Patties through the Combination of Thermal Food Processing Techniques without Destroying the Grilling Quality Characteristics. *Foods*, 2021, 10(7), 1490.
116. Warren, K.E., Hunt, M.C., Kropf, D.H. Myoglobin oxidative state affects internal cooked color development in ground beef patties. *Journal of Food Science*, 1996, 61(3), 513-516.
117. Watanabe, A., Kamada, G., Imanari, M., Shiba, N., Yonai, M., Muramoto, T. Effect of aging on volatile compounds in cooked beef. *Meat Sci.*, 2015, 107, 12–19.

118. Włodarczyk, M., Nowicka. Obesity, DNA damage, and development of obesity-related diseases. *International journal of molecular sciences*, 2019, 20(5), 1146.
119. Wojtasik-Kalinowska, I., Guzek, D., Brodowska, M., Godziszewska, J., Górską-Horczyczak, E., Pogorzelska-Nowicka, E., Sakowska, A., Gantner, M., Wierzbicka, A. The effect of addition of *Nigella sativa* L. oil on the quality and shelf life of pork patties. *J. Food Process. Preserv.*, 2017, 41, e13294.
120. Wrona, M., Bentayeb, K., Nerín, C. A novel active packaging for extending the shelf-life of fresh mushrooms (*Agaricus bisporus*). *Food Control*, 2015, 54, 200–207.
121. Wu, X., Guan, W., Yan, R., Lei, J., Xu, L., Wang, Z. Effects of UV-C on antioxidant activity, total phenolics and main phenolic compounds of the melanin biosynthesis pathway in different tissues of button mushroom. *Postharvest Biol. Technol.*, 2016, 118, 51–58.
122. Yamaguchi, K.K., Pereira, L.F., Lamarão, C.V., Lima, E.S., da Veiga-Junior, V.F. Amazon açai: Chemistry and biological activities: A review. *Food Chem.*, 2015, 179, 137–151.
123. Youssef, M.K., Barbut, S. Effects of protein level and fat/oil on emulsion stability, texture, microstructure and color of meat batters. *Meat Sci.*, 2009, 82, 228–233.
124. Zetzl, A.K., Marangoni, A.G. Structured Emulsions and Edible Oleogels as Solutions to Trans Fat. *Trans Fats Repl. Solut.*, 2014, 215–243.
125. Zhang, K., Pu, Y.-Y., Sun, D.-W. Recent advances in quality preservation of postharvest mushrooms (*Agaricus bisporus*): A review. *Trends Food Sci. Tech.*, 2018, 78, 72–82.
126. Zhang, R., Wang, X., Li, L., Cheng, M., Zhang, L. Optimization of konjac glucomannan/carrageenan/nano-SiO<sub>2</sub> coatings for extending the shelf-life of *Agaricus bisporus*. *Int. J. Biol. Macromol.*, 2019, 122, 857–865.
127. Antoniewska, A., Rutkowska, J., Pineda, M.M., Adamska, A. Antioxidative, nutritional and sensory properties of muffins with buckwheat flakes and amaranth flour blend partially substituting for wheat flour. *LWT*, 2018, 89, 217–223.
128. Altmann, B.A., Gertheiss, J., Tomasevic, I., Engelkes, C., Glaesener, T., Meyer, J., Schäfer, A., Wiesen, R., Mörlein, D. Human perception of color differences using computer vision system measurements of raw pork loin. *Meat Sci.*, 2022, 188, 108766.

## 8. Załączniki

- Publikacja 1; Hanula, M.\*, Pogorzelska-Nowicka, E., Pogorzelski, G., Szpicer, A., Wojtasik-Kalinowska, I., Wierzbicka, A., & Półtorak, A. (2021). Active Packaging of Button Mushrooms with Zeolite and Açai Extract as an Innovative Method of Extending Its Shelf Life. *Agriculture*, 11(7), 653.
- Oświadczenia autorów publikacji 1
- Publikacja 2; Hanula, M.\*, Szpicer, A., Górską-Horczyczak, E., Khachatryan, G., Pogorzelski, G., Pogorzelska-Nowicka, E., & Poltorak, A. (2022). Hydrogel Emulsion with Encapsulated Safflower Oil Enriched with Açai Extract as a Novel Fat Substitute in Beef Burgerys Subjected to Storage in Cold Conditions. *Molecules*, 27(8), 2397.
- Oświadczenia autorów publikacji 2
- Publikacja 3; Hanula, M.\*, Szpicer, A., Górską-Horczyczak, E., Khachatryan, G., Pogorzelska-Nowicka, E., Poltorak, A. (2022). Quality of Beef Burgerys Formulated with Fat Substitute in a Form of Freeze-Dried Hydrogel Enriched with Açai Oil. *Molecules*, 27(8), 2397.
- Oświadczenia autorów publikacji 3

## Article

# Active Packaging of Button Mushrooms with Zeolite and Açai Extract as an Innovative Method of Extending Its Shelf Life

Monika Hanula \*, Ewelina Pogorzelska-Nowicka, Grzegorz Pogorzelski, Arkadiusz Szpicer, Iwona Wojtasik-Kalinowska, Agnieszka Wierzbicka and Andrzej Półtorak

Institute of Human Nutrition Sciences, Department of Technique and Food Product Development, Warsaw University of Life Sciences (WULS-SGGW), Nowoursynowska 159 c Street, 02-776 Warsaw, Poland; ewelina\_pogorzelska@sggw.edu.pl (E.P.-N.); grzegorz\_pogorzelski@sggw.edu.pl (G.P.); arkadiusz\_szpicer@sggw.edu.pl (A.S.); iwona\_wojtasik\_kalinowska@sggw.edu.pl (I.W.-K.); agnieszka\_wierzbicka@sggw.edu.pl (A.W.); andrzej\_poltorak@sggw.edu.pl (A.P.)

\* Correspondence: monika\_hanula@sggw.edu.pl



**Citation:** Hanula, M.; Pogorzelska-Nowicka, E.; Pogorzelski, G.; Szpicer, A.; Wojtasik-Kalinowska, I.; Wierzbicka, A.; Półtorak, A. Active Packaging of Button Mushrooms with Zeolite and Açai Extract as an Innovative Method of Extending Its Shelf Life. *Agriculture* **2021**, *11*, 653. <https://doi.org/10.3390/agriculture11070653>

Academic Editor: Maria Glória Lobo

Received: 8 June 2021

Accepted: 9 July 2021

Published: 11 July 2021

**Publisher's Note:** MDPI stays neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.



**Copyright:** © 2021 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

**Abstract:** As the market demand for button mushrooms is constantly growing, it is important to extend their shelf-life. Active packaging with built-in active components offers the possibility of extending the shelf life of products which are sensitive to external factors. Therefore, the aim of the present study was to check the effect of active packaging with zeolite (clinoptilolite) and açai extract on the bioactive compounds content, antioxidant activity, volatile compound profile, and physical quality of mushrooms subjected to storage for 28 days at 4 °C. Packing mushrooms in active packages improved their chemical characteristics by increasing antioxidant activity ( $p \leq 0.001$ ) in comparison to the conventional packaging methods. Moreover, it slowed down water loss and the browning process both on the surface and inside the mushroom. Furthermore, the results showed a strong correlation ( $p \leq 0.001$ ) between antioxidant activity, bioactive compounds content and color parameters. The obtained results suggest that the addition of the açai extract and zeolite into packaging material protects mushrooms from deterioration for a longer period of time. The use of active packaging to extend product shelf life can contribute to the reduction of the use of food preservatives, but also protects the environment by reducing the volume of waste.

**Keywords:** antioxidant; nanocomposite; films; *Agaricus bisporus*; volatile compounds; malondialdehyde; clinoptilolite

## 1. Introduction

An extremely difficult challenge for humanity will become apparent in the coming decades in the context of environmental (as exhaustive source) protection. The increased demand for food enforces the language of consensus, where, on the one hand, there is a continuous increase in the population, and on the other, natural resources are limited. Furthermore, a huge amount of produced food is wasted. These losses account for a quarter of total global farmland and fertilizer use [1]. Taking into consideration the growing trend of food production, the amount of food wastage cannot be ignored. This is why it is so important to maintain an economic and ecological balance [1,2].

Considering the above, it is of high importance to extend shelf-life of food by applying new packaging methods. Active packaging has recently gained great popularity and is extensively studied worldwide [3]. This type of packaging “deliberately incorporates components that would release or absorb substances into or from the packaged food or the environment surrounding the food” [4]. According to these criteria, the ingredients incorporated to the food packages might be active compounds, extracts, mixtures, or components (especially nanomaterials or nanostructures) that exhibit unique properties (small size, high surface/volume ratio, quantum effects) [5].

Zeolites are considered safe for humans according to the Food and Drug Administration (FDA). Moreover, the International Agency for Research on Cancer (IARC) classified zeolites as non-toxic [6]. Zeolites are crystalline hydrated aluminosilicates, with a characteristic three-dimensional structure, obtained by cage or cavity bond connections. Therefore, they are classified as molecular sieves. This ability allows absorption and cation exchange of chemical compound molecules. Due to its water and ethylene absorption properties, zeolites have found application in various fields, especially in agriculture. Zeolites have been implemented as an active component of low-density polyethylene (LDPE) or high-density polyethylene (HDPE) films used for extending shelf-life of mangoes, kiwifruits, tomatoes, or broccoli [6,7].

Bioactive compounds or plant extracts are an integral part of active packaging. In most cases, the ingredients used for the creation of active packaging have antioxidant properties (influencing oxidative stability improvement) or bactericidal or/and fungicidal. Producers following the new trend of replacing synthetic additives with natural ones, are looking for new bioactive compounds that might be used in active packaging. Tropical plants are of great interest to scientists because of their unexplored potential. One such plant is açai (*Euterpe oleracea* Mart.) from the Aracaceae family, the popularity of which has increased rapidly in recent years. Dark purple açai berries are known to be “superfood” because of their rich content of phytochemicals such as polyphenolic compounds (phenolic acids, ferulic acid, gallic, ellagic acid glycoside, vanillic), anthocyanins (kuromanin, cyanidin-3-glucoside, keracyanin), flavonoids (orientin), and volatile compounds [8,9]. Açai has been successfully used as an antimicrobial, anti-inflammatory, antioxidative, as well as a neuroprotective and cardioprotective agent [10]. Because of their medicinal properties, açai berries help to improve health.

Nowadays, there is a growing health consciousness among populations worldwide and a growing trend towards vegan food and natural foods in the diet. In turn, mushrooms have multiple health benefits and are a relevant component of those diets. Thus, the global mushroom market is projected to experience significant growth. The value of the mushroom cultivation market reached USD 16.7 billion in 2020 and is predicted to grow at a CAGR (compound annual growth rate) of 4.0% to reach USD 20.4 billion on 2025. As much as 40% of global mushroom production is button mushroom, *Agaricus bisporus* (white button mushrooms) is one of the most popular cultivated mushrooms species worldwide [11]. It is also relatively inexpensive in terms of cultivation, low in calories, and contains some vitamins and minerals (niacin, riboflavin, phosphorus, copper, zinc, magnesium). Moreover, white button mushrooms contain bioactive compounds, which exert antimutagenic, chemoprotective, and hypocholesterolemic activity. Furthermore, *A. bisporus* mushrooms are best known for their taste qualities. However, a negative aspect of this fungus is that it is very perishable, resulting in a short shelf life [12,13].

Thus, it is extremely important to find a suitable form of packaging that will extend the shelf life of white button mushrooms, which will allow to reduce food wastage. According to our knowledge, the effect of active packaging with the addition of zeolite and açai extract on the quality of *A. bisporus* subjected to storage under cold conditions has not been studied.

## 2. Materials and Methods

### 2.1. Preparation of Active Membranes

The active packaging with açai extract, zeolite, and açai extract + zeolite was made by coating the packages by prepared solvent casting. First an açai extract was prepared. Briefly, 2 g of açai (superfoods, PL-EKO-07) was homogenized in 50 mL of 50% (v/v) ethanol for 2 min at 13,000 rpm. Then, extraction was performed using an ultrasound at 45 °C for 5 min. The extract was centrifuged, and supernatant stored at 4 °C until film preparation. Then, 6 g of gelatin and 12 g of glycerin were added to 100 mL of distilled water and mixed at 57 °C for 30 min until gelatinous. Subsequently, we added 3 g of açai powder for the film with extract (FE), 1 g of zeolite for the film with zeolite (FZ), 1.5 g of açai extract, and 0.5 g

of zeolite to 100 mL of the solution and magnetically agitated for 15 min at 40 °C. Then, 50 mL of prepared solution was casted on a plastic PET tray (9 × 14 cm<sup>2</sup>) and dried in a convection oven for 12 h at 45 °C.

## 2.2. Packaging and Storage of Mushrooms

*Agaricus bisporus* were grown at a cultivation farm in Wierzbno, Poland. Collected fruit bodies were characterized by even growth and surface area (3–5 cm diameter of a mushroom cap). Harvested mushrooms were pre-cooled at 4 °C and transported at the same day to the laboratory (4 °C). The mushrooms were divided into 5 groups. Three groups were packed with gel films enriched with bioactive components (FE or FZ or FEZ), one group was packed without gel film (C), and the last one was packed also without gel film but was additionally wrapped with plasticized (PVC) foil. FE, FZ, FEZ, and C groups were packed in microperforated PSF film under modified atmosphere (5% CO<sub>2</sub>, 80% O<sub>2</sub>, 15% N<sub>2</sub>) using Sealpac Traysealer M3 (Oldenburg, Germany). The microperforated foil had hole size of 143 µm, 25 µm thickness, and O<sub>2</sub> transmission rate of 7000 cm<sup>3</sup> day<sup>−1</sup> 0.1 MPa<sup>−1</sup>. Packed mushrooms were kept in the fridge at 4 °C for 28 days. Chemical and physical analysis were performed on 0, 7, 14, 21, and 28 storage days.

## 2.3. Physical Analysis of Mushrooms

### 2.3.1. Gas Composition

CO<sub>2</sub> and O<sub>2</sub> (gas composition) analysis was measured using a gas analyzer (Witt-Gasetechnik, Witten, Germany). Measurements were carried out in triplicate.

### 2.3.2. Physiological Weight Loss

Weight loss was presented as percentage loss and calculated according to the following equation:

$$\text{Weight Loss (\%)} = (W_0 - W_s) / W_0 \times 100$$

where W<sub>0</sub> is the weight mushrooms in day 0 and W<sub>s</sub> is the weight after storage (day: 7, 14, 21, 28).

Obtained results were averaged out of five replicates.

### 2.3.3. Color Analysis

#### CIE L\*a\*b\* Analysis

The surface color of mushroom caps was measured in CIE L\*a\*b\* system using Konica Minolta chromameter (CR400, Tokyo, Japan). The instrument was calibrated before measurements on the white standard plate. The area of single measurement was illuminated by a D65 light source. Analyses were performed in thirty replicates for each one experimental group. Proper calculations were made in order to estimate the browning index (BI) and color change (ΔE) according to formulas described by Djekic et al. [14].

#### Color Change of Mushroom Cap

The browning area was measured on the cross-section of the mushroom along the axis of symmetry. Analysis was performed by computer image analysis using Olmaging MicroPublisher 5.0 RTV (Canada) equipped with Kaiser system (Germany). Browning area was calculated using Image-Pro Plus software (v.7.0). The measurement was performed in eighteen replicates for each group, and the results were presented as the percentage of mushroom cap browning. The following equation was used for calculations:

$$\text{Browning (\%)} = P_b / P_c \times 100$$

where P<sub>b</sub> is the brown surface of the mushrooms cap and P<sub>c</sub> is the total surface area of the mushroom cap.



### 2.3.4. Texture Analysis

The penetration test was performed on the mushroom caps using the Instron 5965 Universal Testing Machine (Instron, Norwood, MA, USA) equipped with a diameter cylindrical probe (5 mm). Penetration test was conducted puncturing to a depth of 8 mm inside the mushroom cap. The speed of the probe during penetration was  $2 \text{ mm s}^{-1}$ . Firmness was defined as the maximum force recorded. Measurement was performed in eleven replicates.

## 2.4. Chemical Analysis of Mushrooms

### 2.4.1. Mushroom Extraction for TPC, DPPH and FRAP Analysis

Mushrooms on each storage day were cut and dried in convection oven (Seria FP Classic Line, Model 115, BINDER) for 16 h at  $45^\circ\text{C}$ . The dry matter was then milled, and 1 g was weighted and homogenized with 9 mL of methanol. Then, the extract was subjected to ultrasound for 30 min at  $35^\circ\text{C}$ . Further, extract was shaken for 15 min and centrifuged for 10 min at 9000 rpm and  $4^\circ\text{C}$ . Obtained samples were then stored at  $4^\circ\text{C}$  until the time of the analysis.

### 2.4.2. Total Phenolic Compounds (TPC)

The analysis of the content of total phenolic compounds was performed based on method of Singleton and Rossi [15] with minor modification. In brief, 0.250 mL of Folin-Ciocalteu's reagent, 2.5 mL of 7%  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ , 3.4 mL of  $\text{H}_2\text{O}$  were added to 0.1 mL of the extract and next shaken. The mixture was kept in the dark for 30 min. After that, the absorbance was measured at 750 nm wavelength using UV-VIS spectrophotometer against the blank. TPC was expressed as mg of gallic acid equivalent per gram of dry weight (mg/g dw).

### 2.4.3. Vitamin C (L-Ascorbic Acid, Vitamin C) Content

The analysis of the L-ascorbic acid content was conducted according to the method of Balogh and Szarka [16] with some minor modifications. Dried mushrooms powder (1 g) was mixed with 10 mL of 5% acetic acid and homogenized. After that the mixture was shaken for 30 min and the extract was centrifuged for 10 min, at 9000 rpm ( $4^\circ\text{C}$ ) and filtrated. Afterwards, the extract was mixed with 1% 2,2'-bipyridyl, 0.1%  $\text{FeCl}_3$ , and 85% orthophosphoric acid and subjected to 5 min incubation in dark room. After that, the absorbance was measured at 525 nm using a UV-VIS spectrophotometer against the blank. Vitamin C content was expressed as ascorbic acid mg/g dw.

### 2.4.4. Malonyldialdehyde (MDA) Content

The analysis was conducted according to methods described by Shah et al. [17] and Wang et al. [18]. Briefly, 1 g of dried mushrooms and 10 mL of 0.25% TBA in 10% TCA were shaken in a rotary shaker for 30 min. Then extract was centrifuged for 10 min, at 9000 rpm ( $4^\circ\text{C}$ ) and filtrated. Further, the extracted supernatant was incubated in a water bath at  $100^\circ\text{C}$  for 30 min and quickly chilled (ice bath). Subsequently, the extract was diluted (1.25 mL extract: 1 mL water) and absorbance was measured at 600 nm, 532 nm, and 450 nm against blank using a UV-VIS spectrophotometer. Results were expressed as MDA  $\mu\text{mol/g dw}$ .

### 2.4.5. Ferric Reducing Antioxidant Power (FRAP)

FRAP analysis was measured according to Belwal et al. [19] with some modifications. FRAP solution was prepared by mixing sodium acetate buffer (300 mM, pH 3.6), ferric chloride (20 mM) and 2,4,6-Tri(2-pyridyl)-s-triazine (10 mM in 40 mM HCl) in a ratio 10:1:1. The 40  $\mu\text{L}$  of extract was mixed in 2.960 mL of FRAP solution and incubated in the dark for 30 min. The absorbance (593 nm) was measured using a UV-VIS spectrophotometer. Results were expressed as mg of ascorbic acid equivalent per gram of dry weight.

#### 2.4.6. DPPH Radical Scavenging Assay

Analysis was performed with the usage of radical 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH), according to the methodology of Belwal et al. [19] with some minor modifications. Briefly, 50  $\mu$ L of mushrooms extracts was added to 2.95 solution of DPPH and stirred. The absorbance was measured after incubated in dark place (30 min, room temperature) using UV-VIS spectrophotometer at 520 nm. The obtained result was expressed as mg of ascorbic acid equivalent per gram of dry weight.

#### 2.4.7. E-Nose Analysis

A Heracles II Electronic Nose (Alpha M.O.S., Toulouse, France) equipped with two columns, one polar (MXT-1701) and another non-polar (MXT-5), was used to study the volatile compounds profile of *Agaricus bisporus*. Mushrooms were cut into small cubes. Then, 1 g was put into a 20 mL glass vial and closed with a teflon-silicone rubber cap and the samples were incubated (45 °C, 10 min). After that, the autosampler injected gas (3500  $\mu$ L) into the columns from the headspace of samples. The parameters of analysis were set as follows: flame ionization detectors (FID) at 270 °C, injector at 200 °C, oven temperature program at 60 °C for 2 s, a 3 °C s<sup>-1</sup> ramp to 270 °C, and isotherm at 270 °C for 30 s. Kovats retention indexes were used to detect volatile compounds in the mushroom sample. Measurement was performed in nine replicates for each variant on storage day (0, 14, 28).

#### 2.5. Statistical Analysis

Statistical analysis was performed using STATISTICA software version 13.3 (StatSoft, Tulsa, OK, USA). Normality of the data distribution was checked by the Shapiro–Wilk test. One-way ANOVA followed by Tukey HSD test was used for verifying differences in both chemical and physical parameters. For multifactorial analysis, 95%, 99%, and 99.9% confidence intervals were established, and in the case of one-way ANOVA 95%. AlphaSoft Version 8.0 software was used for principal component analysis (PCA).

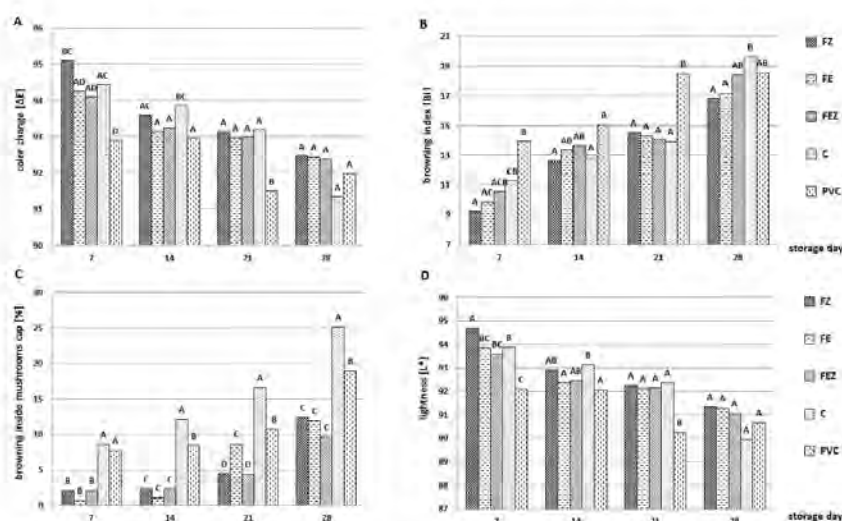
### 3. Results and Discussion

#### 3.1. Physical Quality Assessment of *Agaricus bisporus*

##### 3.1.1. Outer ( $L^*a^*b^*$ ) and Inner Color of Mushrooms

The degree of consumer acceptability of *A. bisporus* depends mainly on its color and degree of browning [20]. White mushrooms are preferable to consumers. The color of mushrooms depends on many different factors both extrinsic and intrinsic. Extrinsic factors are: toxins, mechanical damage, and pathogen development which causes disruption of intracellular membranes. Intrinsic factors are enzymes reacting with substrates, e.g., tyrosinase catalyzes conversion of phenolic substrates into first stage substances which starts the synthesis of melanins [21,22]. Therefore, the measurement of  $L^*$ , BI,  $\Delta E$ , and browning degree inside the mushroom cap is essential to estimate the marketing value of the mushrooms. Color parameters measured in *A. bisporus* packed with active packaging and stored in cold conditions for 28 days are presented in Figure 1. The  $L^*$  parameter decreased during storage and ranged between 94.95 (fresh mushrooms, not packaged) and 89.93 (C, 28 day storage). Decreased values of lightness indicate darkening of mushrooms. This is also confirmed by the parameters  $a^*$  and  $b^*$  (data not shown), the value of which increased during storage. This proportion, yellow and red, reflects the browning process of the mushrooms [23]. Studies carried out by Liu & Wang [24] and Gholami et al. [25] confirmed that the use of packaging in modified atmosphere significantly improved the lightness of the mushrooms after 21 days of storage. After 14 and 21 days of storage, there were no statistical differences in the  $\Delta E$  parameter between the C and the groups packed with the usage of active packaging. In turn, the differences were observed after 28 days of storage. Active packaging with the addition of FZ and FEZ reduced  $\Delta E$ . Similar results were obtained for BI analysis, where active packaging with the addition of zeolite and extract compared to C and PVC slowed down the browning process. For consumers, apart

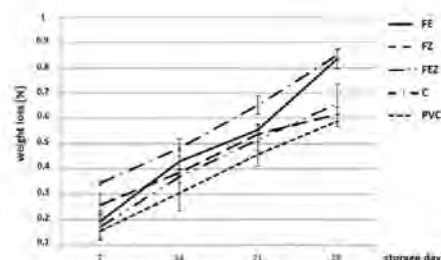
from the external color, the internal color is also important, because it responds to the perception of its freshness. Further, active packaging significantly improved the degree of browning measured inside mushrooms (Figure 1C). Zhang et al. [20] noted the positive effect of active packaging using a nano-SiO<sub>2</sub>/glucomannan/carrageenan coating on both external color and internal darkening of the mushrooms during the storage. Moreover, the positive effect of green tea extract as an ingredient of active packaging on color change was also shown by Wrona et al. [26]. Furthermore, the examined mushrooms on day 28 had  $L > 86$ , which proves good quality of mushrooms [27]. Referring to the presented results, the use of active packaging containing 3% (*w/v*) of the açai extract and 1% (*w/v*) of zeolite had a noticeable positive effect in terms of reducing the color change, browning index, and internal browning of mushroom caps.



**Figure 1.** Color changes on the surface of the caps: color change (A), browning index (B), lightness (D) and browning degree inside mushroom caps (C) in different active packaging with zeolite (FZ), açai extract (FE), açai extract + zeolite (FEZ) packed in MAP, without active packaging in MAP (C) and wrapped in polyvinyl chloride foil (PVC) measured on each storage day. A, B, C—letters mark differences between packaging on the same storage day.

### 3.1.2. Weight Loss and Texture

Water loss is a very important physiological process which has an impact on the quality characteristics of mushrooms, such as texture, appearance, and weight, which in turn are responsible for its hardness [28]. In our research, weight loss increased linearly with each day of storage (7, 14, 21, 28) in all applied forms of packaging (Figure 2) and ranged from 0.15% (PVC, day 7) to 0.85% (control, day 28). Weight loss analysis of mushrooms from different active packages over the same storage period (day 28) showed a statistical difference between groups C and FE vs. PVC, FZ and FEZ. The low water loss in the case of PVC is caused probably due to its low perforation degree. The PVC is characterized by low water permeability [29,30]. We observed that, in the case of active packaging with açai extract + zeolite and zeolite (0.5% *w/v* and 1% *w/v*) packed with perforated foil, there was no statistical differences in comparison to PVC foil on the last day of storage (day 28). The absorption properties of zeolite slowed down the water loss of mushrooms [31], which resulted in a decrease of relative humidity, which in turn inhibited saturation inside the package and water droplets formation.



**Figure 2.** Weight loss of white button mushrooms packed in different active packages containing zeolite (FZ), açai extract (FE), açai extract + zeolite (FEZ) packed in MAP, without active packaging in MAP (C) or wrapped in polyvinyl chloride foil (PVC) measured on each storage day. Standard error is presented in a form of horizontal bars.

During storage, the physical characteristics of mushrooms, such as firmness, gumminess, chewiness, and elasticity, change. This determines the texture. In the presented study, the hardness decreased during storage regardless of the type of active packaging used (Table 1). Similar results were observed by Han et al. [32] and Cheng et al. [33]. These changes are related to the degradation of proteins and polysaccharides, water content and its migration, as well as changes in the permeability of the cell membrane [14,34]. The firmness of the examined mushrooms ranged from 14.33 [N] on day 0 to 8.07 [N] on the last day of storage (day 28). No statistical differences were observed on days 21 and 28 of storage, regardless of the type of active packaging used. These results may be caused by metabolic changes in mushrooms, which result in cell wall degradation, increased activity of endogenous autolysis, destruction of central vacuoles, as well as the reduction of lignin formation in the cell wall [35–37]. Nonetheless, other factors such as the composition of the gases in the space ( $\text{CO}_2$  concentration) above the solution and the relative humidity can also affect the firmness of mushrooms [38].

**Table 1.** Texture (hardness) measured in mushroom caps packed with active packaging containing zeolite (FZ), açai extract (FE), açai extract + zeolite (FEZ) packed with MAP, without active packaging in MAP (C) and wrapped polyvinyl chloride foil (PVC) on each storage day. <sup>A, B</sup>—letters mark differences between every packaging variant on the same storage day.

| Storage Day | Type Active Packaging | Hardness [N]        |
|-------------|-----------------------|---------------------|
| 0           | FM *                  | 14.33               |
| 7           | FZ                    | 12.41 <sup>A</sup>  |
|             | FE                    | 12.86 <sup>AB</sup> |
|             | FEZ                   | 13.35 <sup>AB</sup> |
|             | C                     | 13.25 <sup>AB</sup> |
|             | PVC                   | 13.83 <sup>B</sup>  |
| 14          | FZ                    | 12.14 <sup>B</sup>  |
|             | FE                    | 10.94 <sup>A</sup>  |
|             | FEZ                   | 11.19 <sup>AB</sup> |
|             | C                     | 11.27 <sup>AB</sup> |
|             | PVC                   | 12.14 <sup>B</sup>  |
| 21          | FZ                    | 9.66 <sup>A</sup>   |
|             | FE                    | 9.83 <sup>A</sup>   |
|             | FEZ                   | 10.02 <sup>A</sup>  |
|             | C                     | 9.02 <sup>A</sup>   |
|             | PVC                   | 9.29 <sup>A</sup>   |

Table 1. Cont.

| Storage Day | Type Active Packaging | Hardness [N]      |
|-------------|-----------------------|-------------------|
| 0           | FM *                  | 14.33             |
| 28          | FZ                    | 9.26 <sup>A</sup> |
|             | FE                    | 9.90 <sup>A</sup> |
|             | FEZ                   | 9.71 <sup>A</sup> |
|             | C                     | 8.07 <sup>A</sup> |
|             | PVC                   | 8.43 <sup>A</sup> |

\* FM—fresh mushrooms analyzed at day 0 (not packed mushrooms).

### 3.1.3. Gas Composition

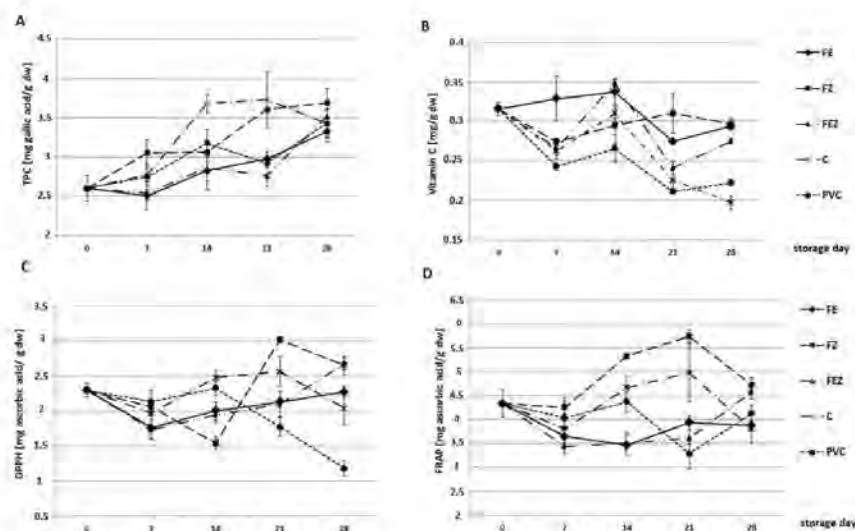
During the harvest, mushrooms are cut off from water and nutrients, but the cap is still a living organ that carries out life processes, especially respiration, which is the main metabolic process [37]. Respiration rate and the permeability of the packaging film determine the gas composition inside the package [39]. Analyzing the headspace gas composition after active packaging and MAP, the O<sub>2</sub> concentration was 80% on day zero. In contrast, after seven days of storage, we observe a sudden decrease in O<sub>2</sub> concentration inside the applied packing's (19%), (data not shown). During the storage, the O<sub>2</sub> concentration remained at a similar level ( $19.43\% \pm 0.90$ ), which indicates that gas diffusion through the film compensated O<sub>2</sub> consumption by white button mushrooms [25]. Nonetheless, final O<sub>2</sub> concentration inside the package was >5%, which, according to Qin et al. [40], prevented anaerobic respiration in *A. bisporus*. In turn, the concentration of CO<sub>2</sub> detected after 28 days of storage at 4 °C ranged between 1.9% to 3.2%, regardless of the type of packaging used (data not shown). These results are consistent with the thesis formed by Joshi et al. [41] that the optimal conditions for storage of mushrooms at 2 °C should be 2.5–5% CO<sub>2</sub>.

## 3.2. Chemical Composition Analysis of *Agaricus bisporus*

### 3.2.1. Total Phenolic Compounds

Mushrooms contain phenolic compounds, secondary metabolites which serves a dual function. Browning of mushrooms results from postharvest stress due to oxidation of phenolic compounds caused by polyphenol oxidase (PPO, EC1.10.3.1). On the other hand, phenols possess a strong antioxidant capacity that inhibits the oxidation chain reactions and thus they retard lipid peroxidation [42,43]. Changes in the TPC content of *A. bisporus* packed with active packages and stored for 28 days are shown in Figure 3. Total phenol content is increased on subsequent storage days in comparison to day 0. Analyzing the results of TPC obtained from mushrooms packed in MAP, an increase in the content of these compounds up to day 21 can be noted (3.73 mg gallic acid g<sup>-1</sup> dw), after which has occurred a significant decrease (3.42 mg gallic acid g<sup>-1</sup> dw). Liu et al. [39] and Ding et al. [44] have observed similar trends in their studies. As a result of applying active packaging with zeolite (FZ) and packaging in MAP (C), a significant increase of TPC content in mushrooms after 21 days of storage has been measured (3.61, 3.73 mg gallic acid g<sup>-1</sup> dw), whereas in groups packed in FE, FEZ, PVC was statistically lower (2.76–2.92 mg gallic acid g<sup>-1</sup> dw). Pearson's correlation analysis (Table 2) showed a positive correlation ( $p \leq 0.001$ ) between the content of polyphenols and browning index. This correlation confirms the relationship between the content of TPC, which are the main substrates in the browning process initiated by polyphenol oxidase (tyrosinase) and laccase [22,26], and the browning degree measured instrumentally.





**Figure 3.** Total phenolic compounds (TPC) (A), Vitamin C (B) and antioxidant capacity DPPH (C) and FRAP (D) measured in *Agaricus bisporus* packed with active packages containing zeolite (FZ), açai extract (FE), açai extract + zeolite (FEZ) in MAP, without active packaging in MAP (C) and wrapped in polyvinyl chloride foil (PVC). Standard error is presented in a form of horizontal bars.

**Table 2.** Pearson's correlation coefficients of mushrooms quality parameters between total phenol (TPC), vitamin C (vit. C), malondialdehyde (MDA) contents, antioxidant activity (DPPH, FRAP), lightness ( $L^*$ ), color change ( $\Delta E$ ), browning index (BI) and browning measured inside mushrooms cap (BIMC).

|            | vit. C | MDA   | DPPH   | FRAP     | TPC      | $L^*$     | $\Delta E$ | BI       | BIMC    |
|------------|--------|-------|--------|----------|----------|-----------|------------|----------|---------|
| vit. C     | 1.00   | −0.10 | 0.19 * | 0.11     | −0.11    | 0.07      | −0.30 ***  | −0.46 ** | −0.06   |
| MDA        |        | 1.00  | 0.08   | −0.09    | 0.05     | −0.19 *   | 0.16       | 0.03     | 0.22 *  |
| DPPH       |        |       | 1.00   | 0.52 *** | 0.55 *** | −0.43 *** | −0.02      | 0.31 *** | 0.05    |
| FRAP       |        |       |        | 1.00     | 0.66 *** | −0.3 ***  | 0.14       | 0.11     | −0.21 * |
| TPC        |        |       |        |          | 1.00     | −0.12     | 0.13       | 0.36 *** | −0.08   |
| $L^*$      |        |       |        |          |          | 1.00      | 0.14       | −0.22 +  | −0.15   |
| $\Delta E$ |        |       |        |          |          |           | 1.00       | 0.46 *** | 0.08    |
| BI         |        |       |        |          |          |           |            | 1.00     | −0.11   |
| BIMC       |        |       |        |          |          |           |            |          | 1.00    |

\*\*\* Significant at  $p \leq 0.001$ , \*\* significant at  $p \leq 0.01$ , \* significant at  $p \leq 0.05$ .

### 3.2.2. Vitamin C Content

Literature shows that the mushrooms produce L-ascorbic acid, which is physiologically important as its synthesis occurs by at least three biosynthetic pathways [42]. Vitamin C content in mushrooms ranged from 0.197 to 0.337 mg ascorbic acid  $g^{-1}$  dw (Figure 2). The lowest values throughout the storage period were observed for PVC and C groups (0.211–0.265 mg ascorbic acid  $g^{-1}$  dw). Reduction of vitamin C content during the storage was caused probably by both enzymatic oxidation reactions and oxidation processes initiated by reactive oxygen species [45,46]. Noticeable, slow increase of vitamin C concentration in mushrooms packed in active packages with addition of zeolite can be associated with gradual release of compounds from zeolite [47]. The content of vitamin C after seven days of storage severely dropped in all groups with the exception of mushrooms packed with active packaging enriched with the açai extract. In this group, the content of vitamin C

in mushrooms increased (7, 14 storage day) compared to day zero. This phenomenon might support the hypothesis that signaling compounds can influence fruits/plants causing mild stress in cells, which induces a defense response by production secondary metabolites such as vitamin C [48–50]. The tendency of rapid decrease then slight increase and once again decrease until the 21st day of storage was observed in PVC, FEZ and C groups. A similar trend was presented by Gao et al. [42] who noted that the final content of vitamin C was lower than measured on day 0. Correlation analysis (Table 2) showed that the degree of vitamin C concentration was negatively correlated with color parameters ( $\Delta E$ ,  $p \leq 0.001$  and BI,  $p \leq 0.01$ ). This result is consistent with the hypothesis presented by Hsu et al. [51], that ascorbic acid is an inhibitor of enzymatic browning. Ascorbic acid reduces conversion of a o-quinone to a phenolic substrate. In contrast, a positive correlation was noticed for antioxidant activity DPPH ( $p \leq 0.05$ ). Vitamin C is generally considered to have a remarkable antioxidant property, because it acts as a donor of single hydrogen atoms and the radical anion monodehydroascorbate reacts predominantly with radicals [52,53].

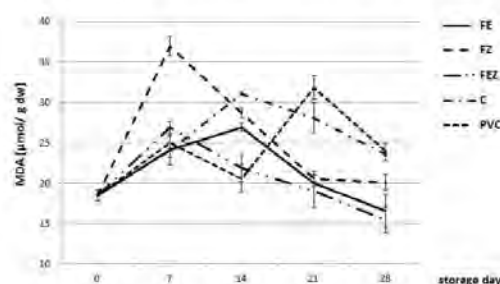
### 3.2.3. Antioxidant Activity (DPPH and FRAP)

Both DPPH and FRAP are well-known and widely used methods to assess the ability of molecules to neutralize free radicals. The FRAP measures the capacity of extracts to reduce ferric tripyridyltriazine complex to the ferrous form. In turn DPPH method is based on the free radical scavenging activity [54]. DPPH radical scavenging activity of *A. bisporus* was measured on days: 7, 14, 21, 28 of storage (Figure 3C). After seven days of storage in all groups, DPPH activity decreased. After 21 days, an upward trend of antioxidant activity was noticed for mushrooms packed in comparison to mushrooms wrapped with PVC film. Moreover, for PVC and C groups, the lowest antioxidant capacity was observed (1.18, 1.78 mg ascorbic acid  $\text{g}^{-1}$  dw, respectively) on day 28 of storage. This result indicates that despite comparable TPC values (3.32–3.69 mg gallic acid  $\text{g}^{-1}$  dw, in 28 storage day) for every variant of packaging, the antioxidant capacity (DPPH) was significantly different. These differences may be due to the fact that each compound belonging to the phenolic group has different antioxidant properties or that the phenolic compounds have already used up their free radical scavenging potential [55,56]. Based on Pearson's correlation coefficients (Table 2) the positive relationship between antioxidant activity (DPPH) and Vitamin C content ( $p \leq 0.05$ ) and TPC content ( $p \leq 0.001$ ) was observed. The study by Bernaś et al. [57] also showed a positive correlation between antioxidant activity and TPC. On the one hand, the increased activity of the phenylpropanoid pathway leads to the synthesis of phenols, which are characterized by high antioxidant activity [24]. However, phenols are substrates for the PPO enzymatic reaction, which increases the dynamic of phenolic compounds conversion into quinones and next into melanin (dark pigment) [21]. The consequence of these changes is probably a negative correlation ( $p \leq 0.001$ ) of antioxidant activity (DPPH) with lightness of mushrooms ( $L^*$ ) and a positive correlation ( $p \leq 0.001$ ) with browning index (BI).

The antioxidant activity of *A. bisporus* measured by the FRAP method on day zero was 4.33 mg of ascorbic acid  $\text{g}^{-1}$  dw, while through the storage ranged between 3.29 and 5.73 mg of ascorbic acid  $\text{g}^{-1}$  dw (Figure 3). A similar result as in the case of DPPH was obtained in the FRAP analysis, where the use of active packaging with the addition of zeolite (on day 28) resulted in a higher antioxidant activity (FRAP) compared to the other packaging variants. Interestingly, despite the different radicals present in the DPPH and FRAP analysis, Pearson correlation analysis (Table 2) showed a strong positive correlation ( $p \leq 0.001$ ) between antioxidant activities measured by both those methods. This dependence is confirmed by the study conducted by Ghahremini-Majd and Daskti [58]. The same correlation degree for DPPH is observed for FRAP in relation to TPC (positive correlation,  $p \leq 0.001$ ) and  $L^*$  (negative correlation  $p \leq 0.001$ ) content. This is probably due to an accumulation of a great number of phenolic compounds which are substrates for reactions of enzymatic browning [59].

### 3.2.4. Malondialdehyde Content

Lipid peroxidation of polyunsaturated fatty acids in cell membranes lead to the creation of many degradation products. Malondialdehyde (MDA) is considered to be a main product and biomarker of membrane lipid peroxidation. The accumulation of MDA can cause many adverse changes, e.g., loosen bridges in cellulose chains or through cross-linking nucleic acids and proteins can limit their biological functions [60]. The low MDA value (Figure 4) throughout the storage period in the case of active packaging with the addition of açai extract or açai extract + zeolite may be associated with presence of volatile compounds that may have antioxidant properties which could slow down the oxidation processes [61,62]. The content of MDA in *A. bisporus* after seven days of storage increased significantly compared to day zero regardless of the type of packaging. Those findings are in line with conclusions made by Zhang et al. [38]. After 14 days of storage, MDA content in PVC, FEZ, and FZ groups decreased, whereas for C and FE, it increased. In turn, on day 21, the MDA content was lower compared to the previous week, in each group, except for PVC. The use of active packaging, either with an açai extract, zeolite, or a combination, resulted in lower accumulation of MDA compared to the C or PVC group. These changes may possibly be related to the lipid peroxidation mechanism. Generally, lipid peroxidation is a process during which free radicals (oxidants) attack lipids containing carbon double bonds, in particular polyunsaturated fatty acids. Linoleic acid is an unsaturated fatty acid which presents in *A. bisporus* to the greatest extent [63]. The products of lipid oxidation are mainly lipid hydroperoxides, nevertheless secondary products may form, such as: MDA, 4-hydroxynonenal (4-HNE), hexanal, isoprostanes or propanal through oxygen radical-dependent oxidative process. This process may proceed with different dynamics and lead to production of a mix of various lipid oxidation products. Thus, the MDA level by itself cannot give the full image of lipid oxidation in general. Thus, the drop of MDA content in experimental groups (except for PVC group) after 21 days of storage can testify that MDA level shows only a fraction image of the lipid oxidative status in tested samples [64].



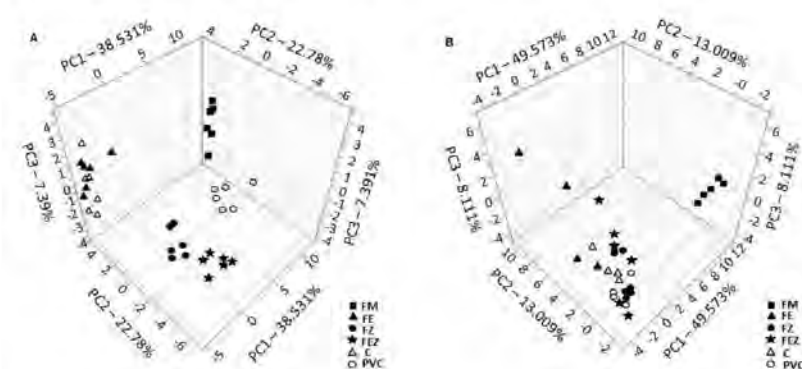
**Figure 4.** Malondialdehyde (MDA) content of white button mushrooms packed in different active packages containing zeolite (FZ), açai extract (FE), açai extract + zeolite (FEZ) packed in MAP, without active packaging in MAP (C) or wrapped in polyvinyl chloride foil (PVC) measured on each storage day. Standard error is presented in a form of horizontal bars.

### 3.2.5. Volatile Compounds Analysis

Volatile compounds in white button mushrooms characterize the degree of mushrooms development state, which is directly related to quality. Principal component analysis (PCA) was used to find the trend, which explicate the best variance in the date set (Figure 5). On day 14 of storage, more than 38% of total variance was explained by 1st principal component (PC1), whereas the 2nd principal component (PC2) explained 22.78% of total variance, and 3rd principal (PC3) explained 7.39% of the total variance. However, on day 28, these differences increased, and they explained total variance in: 49.57% for PC1, 13% for PC2, and 8.11% for PC3. Volatile compounds identified in white button mushrooms was presented in Table 3. Nine compounds were detected in fresh mushrooms.



With the storage time, the amount and type of volatile compounds detected in samples has changed. Compounds such as 1-propanol, 2,6,6-trimethylbicyclo[3.1.1]hept-2-ene ( $\alpha$ -pinene) and decanol-2-one were identified after 14 days of storage in mushrooms from each group. Referring to volatile compounds identified after 28 days of storage, the compounds present in all experimental variants were:  $\alpha$ -pinene, 1-propanol and butane-2,3-dione. Differences and similarities may result from volatile compound formation mechanisms which run through metabolic changes from non-volatile compounds. Mainly amino acids and fatty acids take part in the process of volatile compound formation. Amino acids are reduced to alcohols through the following stages: amino acids  $\rightarrow$   $\alpha$ -keto acids  $\rightarrow$  aldehydes  $\rightarrow$  alcohols [65]. In contrast, fatty acids, especially linoleic acid, subjected to the enzymatic reaction (lipoxygenase), are oxygenated to hydroperoxides. Those metabolic transformations are conditioned by many factors, e.g., genotype, storage conditions, developmental stage, and even some scarce volatile compounds may affect the physiological condition of mushrooms [66].



**Figure 5.** Analysis of principal components (PCA) of volatile compounds identified in mushrooms packed with active packaging containing zeolite (FZ), açai extract (FE), açai extract + zeolite (FEZ) in MAP, without active packaging in MAP (C) and wrapped in polyvinyl chloride foil (PVC) and analyzed in fresh mushrooms (FM, day 0), after 14 (A) and 28 (B) days of storage.

**Table 3.** Volatile compounds identified in mushrooms packed with active packaging containing zeolite (FZ), açai extract (FE), açai extract + zeolite (FEZ) in MAP, without active packaging in MAP (C), wrapped in polyvinyl chloride foil (PVC) and fresh mushrooms (FM) after 0, 14 and 28 days of storage.

| Identified Volatile Compounds                                                                                                   | Sensory Descriptors                                                   | Day of Storage |   |   |    |   |     |    |   |    |   |     |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------|----------------|---|---|----|---|-----|----|---|----|---|-----|
|                                                                                                                                 |                                                                       | 0              |   |   | 14 |   |     | 28 |   |    |   |     |
|                                                                                                                                 |                                                                       | FM             | E | Z | EZ | C | PVC | E  | Z | EZ | C | PVC |
| 3,7-dimethyl-2,6-octadienal<br>2-methylpropanal<br>6-decanal<br>butanal                                                         | citrus<br>burnt<br>green<br>chocolate                                 | aldehydes      |   |   |    |   |     |    |   |    |   |     |
|                                                                                                                                 |                                                                       | +              | + | + |    |   |     |    |   |    |   |     |
|                                                                                                                                 |                                                                       | +              |   |   |    |   |     |    |   |    |   |     |
|                                                                                                                                 |                                                                       | +              |   |   |    |   |     |    |   |    |   |     |
| 1-propanol<br>nonan-3-ol<br>4-methylhexan-1-ol<br>butan-1-ol<br>propane-1,2-diol<br>2-methyl-5-prop-1-en-2-ylcyclohex-2-en-1-ol | alcoholic<br>herbaceous<br>grassy<br>cheese<br>caramelized<br>caraway | alcohols       |   |   |    |   |     |    |   |    |   |     |
|                                                                                                                                 |                                                                       |                | + | + | +  | + | +   | +  | + | +  | + | +   |
|                                                                                                                                 |                                                                       | +              | + |   |    |   |     |    |   |    |   |     |
|                                                                                                                                 |                                                                       | +              |   |   |    | + |     |    |   |    |   |     |

Table 3. Cont.

| Identified Volatile Compounds                                                        | Sensory Descriptors | Day of Storage |   |   |    |   |     |    |   |    |   |     |
|--------------------------------------------------------------------------------------|---------------------|----------------|---|---|----|---|-----|----|---|----|---|-----|
|                                                                                      |                     | 0              |   |   | 14 |   |     | 28 |   |    |   |     |
|                                                                                      |                     | FM             | E | Z | EZ | C | PVC | E  | Z | EZ | C | PVC |
| 2,4-hexadienoic acid<br>formic acid<br>pentanoic acid                                | acidic<br>beefy     | acids          |   |   |    |   |     |    |   |    |   |     |
|                                                                                      |                     |                | + | + | +  | + | +   |    |   | +  |   |     |
|                                                                                      |                     |                | + |   |    | + |     |    | + |    |   |     |
| decan-2-one<br>butane-2,3-dione                                                      | citrus<br>butter    | ketones        |   |   |    |   |     |    |   |    |   |     |
|                                                                                      |                     |                | + | + | +  | + | +   |    | + | +  | + | +   |
| trichloroethane<br>nonane                                                            | sweet<br>alkane     | hydrocarbons   |   |   |    |   |     |    |   |    |   |     |
|                                                                                      |                     | +              | + |   |    |   |     |    | + |    |   |     |
| 2,3-dimethoxyphenol<br>2-methylfuran                                                 | medicinal<br>burnt  | ethers         |   |   |    |   |     |    |   |    |   |     |
|                                                                                      |                     | +              |   |   | +  |   | +   |    |   | +  | + | +   |
| methyl propanoate                                                                    | etheral             | esters         |   |   |    |   |     |    |   |    |   |     |
|                                                                                      |                     |                |   |   |    |   | +   |    |   |    |   |     |
| 1-methyl-4-propan-2-ylcyclohexa-1,4-diene<br>2,6,6-trimethylbicyclo[3.1.1]hept-2-ene | citrus<br>camphor   | terpenes       |   |   |    |   |     |    |   |    |   |     |
|                                                                                      |                     | +              | + | + | +  | + | +   | +  | + | +  | + | +   |

#### 4. Conclusions

This research was carried out in order to verify if active packaging with the addition of zeolite (clinoptilolite) and açai extract can increase the shelf life of *A. bisporus*. The obtained results indicate that the use of active packaging primarily decreased water loss and slowed down the browning process both outside and inside the mushrooms. Moreover, mushrooms stored in active packaging, especially with added zeolite, were characterized by a higher content of vitamin C and antioxidant activity compared with the C and PVC groups. Furthermore, the study showed a high correlation ( $p \leq 0.001$ ) between color parameters ( $L^*$ ,  $\Delta E$ , and  $BI$ ), content of bioactive compounds (TPC and vitamin C), and antioxidant activity (DPPH, FRAP). In summary, active packaging enriched with açai extract and zeolite may effectively inhibit the deterioration of mushroom quality (physical and chemical) when stored after harvest at 4 °C for 28 days.

**Author Contributions:** M.H.: Conceptualization, formal analysis, investigation, methodology, supervision, roles/writing—original draft, visualization. E.P.-N.: Formal analysis, investigation, methodology, supervision, writing—review & editing. G.P.: Methodology. A.S.: Methodology. I.W.-K.: Methodology. A.W.: Writing—review & editing. A.P.: Funding acquisition, supervision. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

**Funding:** This research was funded by Polish Ministry of Science and Higher Education within funds of Institute of Human Nutrition Sciences, Department of Technique and Food Product Development, Warsaw University of Life Sciences (WULS-SGGW), for scientific research.

**Acknowledgments:** The authors would like to acknowledge Roman J. Jędrzejczyk (Małopolska Centre of Biotechnology, Jagiellonian University in Kraków) for technical support.

**Conflicts of Interest:** The authors declare no conflict of interest.

#### References

1. Barrera, E.L.; Hertel, T. Global food waste across the income spectrum: Implications for food prices, production and resource use. *Food Policy* **2021**, *98*, 101874. [CrossRef]
2. Filimonau, V.; Nghiem, V.N.; Wang, L. Food waste management in ethnic food restaurants. *Int. J. Hosp. Manag.* **2021**, *92*, 102731. [CrossRef]
3. Lin, Z.; Goddard, J. Photo-Curable Metal-Chelating Coatings Offer a Scalable Approach to Production of Antioxidant Active Packaging. *J. Food Sci.* **2018**, *83*, 367–376. [CrossRef]

4. European Commission. Commission Regulation (EC) No 450/2009 of 29 May 2009 on active and intelligent materials and articles intended to come into contact with food. *Off. J. Eur. Union* **2009**, *135*, 3–11.
5. Omerović, N.; Djisalov, M.; Živojević, K.; Mladenović, M.; Vunduk, J.; Milenković, I.; Knežević, N.Ž.; Gadžanski, I.; Vidić, J. Antimicrobial nanoparticles and biodegradable polymer composites for active food packaging applications. *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.* **2021**, *20*, 2428–2454. [CrossRef] [PubMed]
6. Eroglu, N.; Emekci, M.; Athanassiou, C.G. Applications of natural zeolites on agriculture and food production. *J. Sci. Food Agric.* **2017**, *97*, 3487–3499. [CrossRef] [PubMed]
7. Yildirim, S.; Röcker, B.; Pettersen, M.K.; Nilsen-Nygaard, J.; Ayhan, Z.; Rutkaite, R.; Radusin, T.; Suminska, P.; Marcos, B.; Coma, V. Active Packaging Applications for Food. *Compr. Rev. Food Sci. E* **2017**, *17*, 165–199. [CrossRef]
8. Lim, S.-H.; Nam, H.; Baek, H.-H. Aroma Characteristics of Acai Berry. *Korean J. Food Sci. Technol.* **2016**, *48*, 122–127. [CrossRef]
9. Earling, M.; Beadle, T.; Niemeyer, E.D. Acai Berry (*Euterpe oleracea*) Dietary Supplements: Variations in Anthocyanin and Flavonoid Concentrations, Phenolic Contents, and Antioxidant Properties. *Plant Foods Hum. Nutr.* **2019**, *74*, 421–429. [CrossRef] [PubMed]
10. Hanula, M.; Wyrwisz, J.; Moczowska, M.; Horbańczuk, O.K.; Pogorzelska-Nowicka, E.; Wierzbicka, A. Optimization of Microwave and Ultrasound Extraction Methods of Acai Berries in Terms of Highest Content of Phenolic Compounds and Antioxidant Activity. *J. Appl. Sci.* **2020**, *10*, 8325. [CrossRef]
11. Siwulski, M.; Budka, A.; Rzymski, P.; Gasecka, M.; Kalač, P.; Budzyńska, S.; Magdziak, Z.; Niedzielski, P.; Mleczek, P.; Mleczek, M. Worldwide basket survey of multielemental composition of white button mushroom *Agaricus bisporus*. *Chemosphere* **2020**, *239*, 124718. [CrossRef]
12. Muszyńska, B.; Piotrowska, J.; Krakowska, A.; Gruba, A.; Kała, K.; Sułkowska-Ziaja, K.; Kryczyk, A.; Opoka, W. Study of physiologically active components in different parts of fruiting bodies of varieties of *Agaricus bisporus* (white mushroom). *Eur. Food Res. Technol.* **2017**, *243*, 2135–2145. [CrossRef]
13. Mushroom Cultivation Market. Mushroom Cultivation Market by Type (Button Mushroom, Oyster Mushroom, Shiitake Mushroom, Other Types), By Phase, By Region (North America, Europe, Asia Pacific, South America, Rest of the World)—Global Forecast to 2025. Report 2020. pp. 1–141. Available online: <https://www.researchandmarkets.com/reports/5018601> (accessed on 7 June 2021).
14. Djekic, I.; Vunduk, J.; Tomašević, I.; Kozarski, M.; Petrovic, P.; Niksic, M.; Pudja, P.; Klaus, A. Total quality index of *Agaricus bisporus* mushrooms packed in modified atmosphere. *J. Sci. Food Agric.* **2016**, *97*, 2675–2680. [CrossRef]
15. Singleton, V.L.; Rossi, J.A. Colorimetry of Total Phenolics with Phosphomolybdic-Phosphotungstic Acid Reagents. *Am. J. Enol. Vitic.* **1965**, *16*, 144–158.
16. Balogh, T.; Szarka, A. A comparative study: Methods for the determination of ascorbic acid in small and middle sized food analytic laboratories. *Acta Aliment.* **2016**, *45*, 354–362. [CrossRef]
17. Shah, K.; Kumar, R.G.; Verma, S.; Dubey, R. Effect of cadmium on lipid peroxidation, superoxide anion generation and activities of antioxidant enzymes in growing rice seedlings. *Plant Sci.* **2001**, *161*, 1135–1144. [CrossRef]
18. Wang, Q.; Chu, L.; Kou, L. UV-C Treatment maintains quality and delays senescence of oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*). *Sci. Hortic.* **2017**, *225*, 380–385. [CrossRef]
19. Belwal, T.; Dhyani, P.; Bhatt, I.D.; Rawal, R.S.; Pande, V. Optimization extraction conditions for improving phenolic content and antioxidant activity in *Berberis asiatica* fruits using response surface methodology (RSM). *Food Chem.* **2016**, *207*, 115–124. [CrossRef]
20. Zhang, R.; Wang, X.; Li, L.; Cheng, M.; Zhang, L. Optimization of konjac glucomannan/carrageenan/nano-SiO<sub>2</sub> coatings for extending the shelf-life of *Agaricus bisporus*. *Int. J. Biol. Macromol.* **2019**, *122*, 857–865. [CrossRef]
21. Zhang, K.; Pu, Y.-Y.; Sun, D.-W. Recent advances in quality preservation of postharvest mushrooms (*Agaricus bisporus*): A review. *Trends Food Sci. Tech.* **2018**, *78*, 72–82. [CrossRef]
22. Lin, X.; Sun, D.-W. Research advances in browning of button mushroom (*Agaricus bisporus*): Affecting factors and controlling methods. *Trends Food Sci. Tech.* **2019**, *90*, 63–75. [CrossRef]
23. Walkowiak-Tomczak, D.; Idaszewska, N.; Bieńczyk, K.; Kómoń, W. The Effect of Mechanical Actions Occurring during Transport on Physicochemical Changes in *Agaricus bisporus* Mushrooms. *Sustainability* **2020**, *12*, 4993. [CrossRef]
24. Liu, Z.; Wang, X. Changes in color, antioxidant, and free radical scavenging enzyme activity of mushrooms under high oxygen modified atmospheres. *Postharvest Biol. Tec.* **2012**, *69*, 1–6. [CrossRef]
25. Gholami, R.; Ahmadi, E.; Farris, S. Shelf life extension of white mushrooms (*Agaricus bisporus*) by low temperatures conditioning, modified atmosphere, and nanocomposite packaging material. *Food Packag. Shelf Life* **2017**, *14*, 88–95. [CrossRef]
26. Wrona, M.; Bentayeb, K.; Nerin, C. A novel active packaging for extending the shelf-life of fresh mushrooms (*Agaricus bisporus*). *Food Control* **2015**, *54*, 200–207. [CrossRef]
27. Gormley, R. Chill storage of mushrooms. *J. Sci. Food Agric.* **1975**, *26*, 401–411. [CrossRef]
28. Shekari, A.; Hassani, R.N.; Aghdam, M.S.; Rezaee, M.; Jannatizadeh, A. The effects of melatonin treatment on cap browning and biochemical attributes of *Agaricus bisporus* during low temperature storage. *Food Chem.* **2021**, *348*, 129074. [CrossRef] [PubMed]
29. Pogorzelska-Nowicka, E.; Hanula, M.; Wojtasik-Kalinowska, I.; Stelmasiak, A.; Zalewska, M.; Półtorak, A.; Wierzbicka, A. Packaging in a High O<sub>2</sub> or Air Atmospheres and in Microperforated Films Effects on Quality of Button Mushrooms Stored at Room Temperature. *Agriculture* **2020**, *10*, 479. [CrossRef]



30. Oz, A.T.; Ulukanlı, Z.; Bozok, F.; Baktemur, G. The postharvest quality, sensory and shelf life of *Agaricus bisporus* in active map. *J. Food Process Pres.* **2015**, *39*, 100–106. [\[CrossRef\]](#)
31. Nagrockiene, D.; Girskas, G. Research into the properties of concrete modified with natural zeolite addition. *Constr. Build. Mater.* **2016**, *113*, 964–969. [\[CrossRef\]](#)
32. Han, L.; Qin, Y.; Liu, D.; Chen, H.; Li, H.; Yuan, M. Evaluation of biodegradable film packaging to improve the shelf-life of *Boletus edulis* wild edible mushrooms. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.* **2015**, *29*, 288–294. [\[CrossRef\]](#)
33. Cheng, M.; Wang, J.; Zhang, R.; Kong, R.; Lu, W.; Wang, X. Characterization and application of the microencapsulated carvacrol/sodium alginate films as food packaging materials. *Int. J. Biol. Macromol.* **2019**, *141*, 259–267. [\[CrossRef\]](#)
34. Ghasemi-Vernamkhasti, M.; Mohammad-Razdari, A.; Yoosefian, S.H.; Izadi, Z. Effects of the combination of gamma irradiation and Ag nanoparticles polyethylene films on the quality of fresh bottom mushroom (*Agaricus bisporus* L.). *J. Food Process. Pres.* **2018**, *42*, e13652. [\[CrossRef\]](#)
35. Antmann, G.; Ares, G.; Lema, P.; Laro, C. Influence of modified atmosphere packaging on sensory quality of shiitake mushrooms. *Postharvest Biol. Technol.* **2008**, *49*, 164–170. [\[CrossRef\]](#)
36. Singh, S.; Gaikwad, K.K.; Lee, M.; Lee, Y.S. Thermally buffered corrugated packaging for preserving the postharvest freshness of mushrooms (*Agaricus bisporus*). *J. Food Eng.* **2018**, *216*, 11–19. [\[CrossRef\]](#)
37. Zhang, L.; Liu, Z.; Sun, Y.; Wang, X.; Li, L. Combined antioxidant and sensory effects of active chitosan/zein film containing  $\alpha$ -tocopherol on *Agaricus bisporus*. *Food Packag. Shelf Life* **2020**, *24*, 100470. [\[CrossRef\]](#)
38. Salamat, R.; Ghassemzadeh, H.R.; Ranjbar, F.; Jalali, A.; Mahajan, P.; Herppich, W.B.; Mellmann, J. The effect of additional packaging barrier, air moment and cooling rate on quality parameters of button mushroom (*Agaricus bisporus*). *Food Packag. Shelf Life* **2020**, *23*, 100448. [\[CrossRef\]](#)
39. Liu, J.; Liu, S.; Zhang, X.; Kan, J.; Jin, C. Effect of gallic acid grafted chitosan film packaging on the postharvest quality of white button mushroom (*Agaricus bisporus*). *Postharvest Biol. Technol.* **2019**, *147*, 39–47. [\[CrossRef\]](#)
40. Qin, Y.; Liu, D.; Wu, Y.; Yuan, M.; Li, L.; Yang, J. Effect of PLA/PCL/cinnamaldehyde antimicrobial packaging on physicochemical and microbial quality of button mushroom (*Agaricus bisporus*). *Postharvest Biol. Technol.* **2015**, *99*, 73–79. [\[CrossRef\]](#)
41. Joshi, K.; Warby, J.; Velverde, J.; Tiwari, B.; Cullen, P.J.; Frias, J.M. Impact of cold chain and product variability on quality attributes of modified atmosphere packed mushrooms (*Agaricus bisporus*) throughout distribution. *J. Food Eng.* **2018**, *232*, 44–55. [\[CrossRef\]](#)
42. Gao, M.; Feng, L.; Jiang, T. Browning inhibition and quality preservation of button mushroom (*Agaricus bisporus*) by essential oils fumigation treatment. *Food Chem.* **2014**, *149*, 107–113. [\[CrossRef\]](#)
43. Dokhanieh, A.Y.; Aghdam, M.S. Postharvest browning alleviation of *Agaricus bisporus* using salicylic acid treatment. *Sci. Hortic.* **2016**, *207*, 146–151. [\[CrossRef\]](#)
44. Ding, Y.; Zhu, Z.; Zhao, J.; Nie, Y.; Zhang, Y.; Sheng, J.; Meng, D.; Mao, H.; Tang, X. Effects of Postharvest Brassinolide Treatment on the Metabolism of White Button Mushroom (*Agaricus bisporus*) in Relation to Development of Browning During Storage. *Food Bioproc. Technol.* **2016**, *9*, 1327–1334. [\[CrossRef\]](#)
45. Vunduk, J.; Kozarski, M.; Djekic, I.; Tomašević, I.; Klaus, A. Effect of modified atmosphere packaging on selected functional characteristics of *Agaricus bisporus*. *Eur. Food Res. Technol.* **2021**, *247*, 829–838. [\[CrossRef\]](#)
46. Ojeda, G.A.; Sgroppo, S.C.; Martin-Belloso, O.; Soliva-Fortuny, R. Chitosan/tripolyphosphate nanoaggregates enhance the antibrowning effect of ascorbic acid on mushroom slices. *Postharvest Biol. Technol.* **2019**, *156*, 110934. [\[CrossRef\]](#)
47. Servatan, M.; Zarrintaj, P.; Mahmodi, G.; Kim, S.-J.; Ganjali, M.R.; Saeb, M.R.; Mozafari, M. Zeolites in drug delivery: Progress, challenges and opportunities. *Drug Discov. Today* **2020**, *25*, 642–656. [\[CrossRef\]](#)
48. Montero-Prado, P.; Bentayeb, K.; Nerin, C. Pattern recognition of peach cultivars (*Prunus persica* L.) from their volatile components. *Food Chem.* **2013**, *138*, 724–731. [\[CrossRef\]](#)
49. Gutiérrez, L.; Batlle, R.; Sánchez, C.; Nerin, C. New Approach to Study the Mechanism of Antimicrobial Protection of an Active Packaging. *Foodborne Pathog. Dis.* **2010**, *7*, 1063–1069. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
50. Tokarz, K.M.; Makowski, W.; Tokarz, B.; Hanula, M.; Sitek, E.; Muszyńska, E.; Jędrzejczyk, R.; Banasiuk, R.; Chajec, L.; Mazur, S. Can Ceylon Leadwort (*Plumbago zeylanica* L.) Acclimate to Lead Toxicity?—Studies of Photosynthetic Apparatus Efficiency. *Int. J. Mol. Sci.* **2020**, *21*, 1866. [\[CrossRef\]](#)
51. Hsu, A.F.; Shieh, J.J.; Bills, D.D.; White, K. Inhibition of Mushroom Polyphenoloxidase by Ascorbic Acid Derivatives. *J. Food Sci.* **1988**, *53*, 765–767. [\[CrossRef\]](#)
52. Janani, N.; Zare, E.N.; Salimi, F.; Makvandi, P. Antibacterial tragacanth gum-based nanocomposite films carrying ascorbic acid antioxidant for bioactive food packaging. *Carbohydr. Polym.* **2020**, *247*, 116678. [\[CrossRef\]](#)
53. Njus, D.; Kelly, P.M.; Tu, Y.-J.; Schlegel, B. Ascorbic acid: The chemistry underlying its antioxidant properties. *Free Radic. Biol. Med.* **2020**, *159*, 37–43. [\[CrossRef\]](#)
54. Lin, Q.; Lu, Y.; Zhang, J.; Liu, W.; Guan, W.; Wang, Z. Effects of high CO<sub>2</sub> in-package treatment on flavor, quality and antioxidant activity of button mushroom (*Agaricus bisporus*) during postharvest storage. *Postharvest Biol. Technol.* **2017**, *123*, 112–118. [\[CrossRef\]](#)
55. Huyut, Z.; Beydemir, Ş.B.; Gülçin, İ. Antioxidant and Antiradical Properties of Selected Flavonoids and Phenolic Compounds. *Biochem. Res. Int.* **2017**, *2017*, 7616791. [\[CrossRef\]](#)
56. Chen, J.; Yang, J.; Ma, L.; Li, J.; Shahzad, N.; Kim, C.K. Structure-antioxidant activity relationship of methoxy, phenolic hydroxyl, and carboxylic acid groups of phenolic acids. *Sci. Rep.* **2020**, *10*, 2611. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)

57. Bernaś, E. Comparison of the mechanism of enzymatic browning in frozen white and brown *A. bisporus*. *Eur. Food Res. Technol.* **2018**, *244*, 1239–1248. [\[CrossRef\]](#)
58. Ghahremani-Majd, H.; Dashti, F. Chemical Composition and Antioxidant Properties of Cultivated Button Mushrooms (*Agaricus bisporus*). *Hort. Environ. Biotechnol.* **2015**, *56*, 376–382. [\[CrossRef\]](#)
59. Wu, X.; Guan, W.; Yan, R.; Lei, J.; Xu, L.; Wang, Z. Effects of UV-C on antioxidant activity, total phenolics and main phenolic compounds of the melanin biosynthesis pathway in different tissues of button mushroom. *Postharvest Biol. Technol.* **2016**, *118*, 51–58. [\[CrossRef\]](#)
60. Hu, Y.-H.; Chen, C.-M.; Xu, L.; Cui, Y.; Yu, X.-Y.; Gao, H.-J.; Wang, Q.; Liu, K.; Shi, Y.; Chen, Q.-X. Postharvest application of 4-methoxy cinnamic acid for extending the shelf life of mushroom (*Agaricus bisporus*). *Postharvest Biol. Technol.* **2015**, *104*, 33–41. [\[CrossRef\]](#)
61. Saw, A.K.-C.; Yam, W.; Wong, K.-C.; Lai, C. A Comparative Study of the Volatile Constituents of Southeast Asian *Coffea arabica*, *Coffea liberica* and *Coffea robusta* Green Beans and their Antioxidant Activities. *J. Essent. Oil Bear. Plants* **2015**, *18*, 64–73. [\[CrossRef\]](#)
62. Moczowska, M.; Karp, S.; Horbanczuk, O.K.; Hanula, M.; Wyrwisz, J.; Kurek, M.A. Effect of rosemary extract addition on oxidative stability and quality of hemp seed oil. *Food Bioprod. Process.* **2020**, *124*, 33–47. [\[CrossRef\]](#)
63. Nasiri, F.; Tarzi, B.G.; Bassiri, A.R.; Hoseini, S.E.; Aminafshar, M. Comparative Study on the Main Chemical Composition of Button Mushroom's (*Agaricus bisporus*) Cap and Stipe. *J. Food Biosci. Technol.* **2013**, *3*, 41–48.
64. Ayala, A.; Muñoz, M.F.; Argüelles, S. Lipid Peroxidation: Production, Metabolism, and Signaling Mechanisms of Malondialdehyde and 4-Hydroxy-2-Nonenal. *Oxid. Med. Cell. Longev.* **2014**, *2014*, 360438. [\[CrossRef\]](#)
65. Vahdatzadeh, M.; Splivallo, R. Improving truffle mycelium flavour through strain selection targeting volatiles of the Ehrlich pathway. *Sci. Rep.* **2018**, *8*, 9304. [\[CrossRef\]](#)
66. Feng, T.; Yang, M.; Ma, B.; Zhao, Y.; Zhuang, H.; Zhang, J.; Chen, D. Volatile profiles of two genotype *Agaricus bisporus* species at different growth stages. *Food Res. Int.* **2020**, *140*, 109761. [\[CrossRef\]](#)

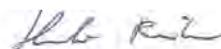
Warszawa, 14.06.2022r.

Monika Hanula  
monika\_hanula@sggw.edu.pl

**Rada Dyscypliny Technologia  
Żywności i Żywienia  
Szkoły Głównej Gospodarstwa  
Wiejskiego w Warszawie**

#### **Oświadczenie o współautorstwie**

Niniejszym oświadczam, że w pracy Hanula, M.; Pogorzelska-Nowicka, E.; Pogorzelski, G.; Szpicer, A.; Wojtasik-Kalinowska, I.; Wierzbicka, A.; Półtorak, A., 2021, Active Packaging of button mushrooms with zeolite and açai extract as an innovative method of extending its shelf life, Agriculture, 11, 653, 1-16, mój indywidualny udział w jej powstaniu wynosił 55% i polegał na: współudziale w opracowaniu koncepcji badań i metodyk (całkowita zawartość fenoli, zdolność antyoksydacyjna FRAP oraz DPPH, zawartość witaminy C, zawartość dialdehydu malonylowego, analiza barwy, analiza związków lotnych, przygotowanie biopowłok), współudziale w prowadzeniu badań (barwy KAO oraz L\*a\*b\*, składu gazów wewnątrz opakowania, fizjologicznej utraty masy, tekstury, biochemicznych: całkowitej zawartości fenoli, witaminy C, aktywności antyoksydacyjnej), nadzorze nad prowadzeniem badań i przebiegiem doświadczenia, przeprowadzeniu analizy statystycznej wyników, przygotowaniu manuskryptu oraz udzieleniu odpowiedzi recenzentom (byłam autorem korespondencyjnym).



Podpis

Warszawa, 14.06.2022r.

Ewelina Pogorzelska-Nowicka  
ewelina\_pogorzelska\_nowicka@sggw.edu.pl

**Rada Dyscypliny Technologia  
Żywności i Żywienia  
Szkoły Głównej Gospodarstwa  
Wiejskiego w Warszawie**

**Oświadczenie o współautorstwie**

Niniejszym oświadczam, że w pracy Hanula, M.; Szpicer, A.; Górską-Horczyczak, E.; Khachatryan, G.; Pogorzelski, G.; Pogorzelska-Nowicka, E.; Półtorak, A., 2022. Hydrogel Emulsion with Encapsulated Safflower Oil Enriched with Açaí Extract as a Novel Fat Substitute in Beef Burgers Subjected to Storage in Cold Conditions, *Molecules*, 27, 2397, 1-27, mój indywidualny udział w jej powstaniu polegał na: współudział w prowadzeniu badań, współudział w edycji manuskryptu.

Podpis

*Ewelina Pogorzelska-Nowicka*



Warszawa, 14.06.2022r.

Grzegorz Pogorzelski  
grzegorz\_pogorzelski@sggw.edu.pl

**Rada Dyscypliny Technologia  
Żywności i Żywienia  
Szkoły Głównej Gospodarstwa  
Wiejskiego w Warszawie**

#### **Oświadczenie o współautorstwie**

Niniejszym oświadczam, że w pracy Hanula, M.; Pogorzelska-Nowicka, E.; Pogorzelski, G.; Szpicer, A.; Wojtasik-Kalinowska, I.; Wierzbicka, A.; Półtorak, A., 2021, Active Packaging of button mushrooms with zeolite and açai extract as an innovative method of extending its shelf life, Agriculture, 11, 653, 1-16, mój indywidualny udział w jej powstaniu polegał na: współprowadzeniu analiz fizycznych pieczarek.

Podpis





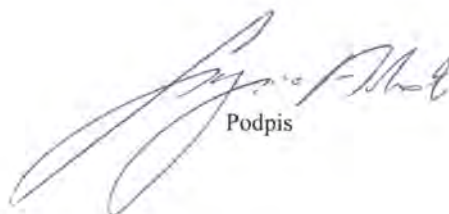
Warszawa, 14.06.2022r.

Arkadiusz Szpicer  
arkadiusz\_szpicer@sggw.edu.pl

**Rada Dyscypliny Technologia  
Żywności i Żywienia  
Szkoly Głównej Gospodarstwa  
Wiejskiego w Warszawie**

**Oświadczenie o współautorstwie**

Niniejszym oświadczam, że w pracy Hanula, M.; Pogorzelska-Nowicka, E.; Pogorzelski, G.; Szpicer, A.; Wojtasik-Kalinowska, I.; Wierzbicka, A.; Półtorak, A., 2021, Active Packaging of button mushrooms with zeolite and açai extract as an innovative method of extending its shelf life, Agriculture, 11, 653, 1-16, mój indywidualny udział w jej powstaniu polegał na: współudziale w przeprowadzeniu analiz (witaminy C, MDA, barwa L\*a\*b\*, absorpcja H<sub>2</sub>O biofilmu).



Podpis

Warszawa, 14.06.2022r.

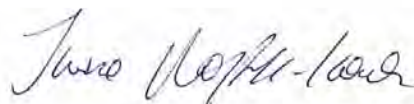
Iwona Wojtasik-Kalinowska  
iwona\_wojtasik\_kalinowska@sggw.edu.pl

Rada Dyscypliny Technologia  
Żywności i Żywienia

Szkoły Głównej Gospodarstwa  
Wiejskiego w Warszawie

#### Oświadczenie o współautorstwie

Niniejszym oświadczam, że w pracy Hanula, M.; Pogorzelska-Nowicka, E.; Pogorzelski, G.; Szpicer, A.; Wojtasik-Kalinowska, I.; Wierzbicka, A.; Półtorak, A., 2021, Active Packaging of button mushrooms with zeolite and açai extract as an innovative method of extending its shelf life, Agriculture, 11, 653, 1-16, mój indywidualny udział w jej powstaniu polegał na: współprowadzeniu analizy związków lotnych z wykorzystaniem Heracles II e-nose.



Podpis

Załącznik nr 9

Warszawa, 14.06.2022r.

Agnieszka Wierzbicka  
agnieszka\_wierzbicka@sggw.edu.pl

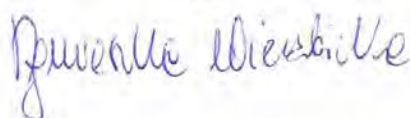
**Rada Dyscypliny Technologia  
Żywności i Żywienia**

**Szkoły Głównej Gospodarstwa  
Wiejskiego w Warszawie**

#### **Oświadczenie o współautorstwie**

Niniejszym oświadczam, że w pracy Hanula, M.; Pogorzelska-Nowicka, E.; Pogorzelski, G.; Szpicer, A.; Wojtasik-Kalinowska, I.; Wierzbicka, A.; Półtorak, A., 2021, Active Packaging of button mushrooms with zeolite and açai extract as an innovative method of extending its shelf life, Agriculture, 11, 653, 1-16, mój indywidualny udział w jej powstaniu polegał na: współudział w edycji manuskryptu.

Podpis



Załącznik nr 9 – Wzór oświadczenia o współautorstwie

Warszawa, 14.06.2022r.

Andrzej Półtorak  
Andrzej\_poltorak@sggw.edu.pl

**Rada Dyscypliny Technologia  
Żywności i Żywienia  
Szkoły Głównej Gospodarstwa  
Wiejskiego w Warszawie**

**Oświadczenie o współautorstwie**

Niniejszym oświadczam, że w pracy Hanula, M.; Pogorzelska-Nowicka, E.; Pogorzelski, G.; Szpicer, A.; Wojtasik-Kalinowska, I.; Wierzbicka, A.; Półtorak, A., 2021, Active Packaging of button mushrooms with zeolite and açai extract as an innovative method of extending its shelf life, Agriculture, 11, 653, 1-16, mój indywidualny udział w jej powstaniu polegał na: współudziale w opracowaniu koncepcji badań, nadzorowaniu realizowanych prac, współudziale w przygotowaniu manuskryptu, pozyskanie środków finansowych na realizację badań.

Podpis



## Article

# Hydrogel Emulsion with Encapsulated Safflower Oil Enriched with Açai Extract as a Novel Fat Substitute in Beef Burgers Subjected to Storage in Cold Conditions

Monika Hanula <sup>1,\*</sup>, Arkadiusz Szpicer <sup>1</sup>, Elżbieta Górską-Horczyzak <sup>1</sup>, Gohar Khachatryan <sup>2</sup>, Grzegorz Pogorzelski <sup>1</sup>, Ewelina Pogorzelska-Nowicka <sup>1</sup> and Andrzej Poltorak <sup>1</sup>

- <sup>1</sup> Department of Technique and Food Development, Institute of Human Nutrition Sciences, Warsaw University of Life Sciences, Nowoursynowska 159c Street 32, 02-776 Warsaw, Poland; arkadiusz\_szpicer@sggw.edu.pl (A.S.); elzbieta\_gorska\_horczyzak@sggw.edu.pl (E.G.-H.); grzegorz.pogorzelski@gmail.com (G.P.); ewelina\_pogorzelska@sggw.edu.pl (E.P.-N.); andrzej\_poltorak@sggw.edu.pl (A.P.)
- <sup>2</sup> Department of Food Analysis and Evaluation of Food Quality, Faculty of Food Technology, University of Agriculture in Krakow, Mickiewicz Ave. 21, 31-120 Krakow, Poland; gohar.khachatryan@urk.edu.pl
- \* Correspondence: monika\_hanula@sggw.edu.pl



**Citation:** Hanula, M.; Szpicer, A.; Górską-Horczyzak, E.; Khachatryan, G.; Pogorzelski, G.; Pogorzelska-Nowicka, E.; Poltorak, A. Hydrogel Emulsion with Encapsulated Safflower Oil Enriched with Açai Extract as a Novel Fat Substitute in Beef Burgers Subjected to Storage in Cold Conditions. *Molecules* **2022**, *27*, 2397. <https://doi.org/10.3390/molecules27082397>

**Academic Editors:**  
Sabina Lachowicz-Wisniewska,  
Jan Oszmianski and  
Francesco Cacciola

Received: 9 March 2022

Accepted: 4 April 2022

Published: 7 April 2022

**Publisher's Note:** MDPI stays neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.



**Copyright:** © 2022 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

**Abstract:** This study evaluates the effects of using a fat substitute in beef burgers composed of a hydrogel emulsion enriched with encapsulated safflower oil and açai extract. The influences of the fat substitute on the chemical (TBARS, fatty acids, and volatile compounds profile) and physical (weight loss, cooking loss, water-holding capacity, color, and texture analyses) characteristics of the burgers were analyzed after 0, 4 and 8 days of storage at  $4 \pm 1$  °C. The obtained results were compared with control groups (20 g of tallow or 8 g of safflower oil). The fat substitute used improved burger parameters such as chewiness, hardness and the  $a^*$  color parameter remained unchanged over storage time. The addition of açai extract slowed the oxidation rate of polyunsaturated fatty acids and reduced the changes in the volatile compounds profile during the storage of burgers. The utilization of a fat substitute enriched the burgers with polyunsaturated fatty acids and lowered the atherogenic index (0.49 raw, 0.58 grilled burger) and the thrombogenicity index (0.8 raw, 1.09 grilled burger), while it increased the hypocholesterolemic/hypercholesterolemic ratio (2.59 raw, 2.09 grilled burger) of consumed meat. Thus, the application of the presented fat substitute in the form of a hydrogel enriched with açai berry extract extended the shelf life of the final product and contributed to the creation of a healthier meat product that met the nutritional recommendations.

**Keywords:** konjac; linseed flour; fat substitute; volatile compounds; lipid oxidation; encapsulation

## 1. Introduction

The current literature suggests that the development of many human diseases stems from a variety of factors, in which diet type is prominent [1]. Over the last 40 years, the prevalence of obesity has doubled, resulting in ischemic heart disease, strokes, and numerous other diseases. Consumers and international health organizations (the World Health Organization and the European Food Safety Authority) have demanded changes in food quality and content in order to improve the level of human health. Meat products belong to a category of food that is a rich source of saturated and trans fatty acids that can increase the risk of cardiovascular diseases. Due to the evolution of human lifestyles, greater demands for easily accessible and fast-food preparation are observed, for example, beef burgers. Recent studies have focused on meeting these demands through the preparation of burgers with potential health benefits that consider consumers' needs and the nutritional recommendations of global organizations. This has been achieved through a combination of functional ingredients or by using fat substitutes [1–3].



The main challenge of fat substitutes is finding an oil that improves the nutritional profile without affecting consumer acceptability of the final product. To overcome such drawbacks of fat substitutes, many strategies have been proposed such as oil encapsulation and immobilization in oleogels or hydrogels [1]. The conversion of liquid vegetable oils into a solid gel has been the subject of many scientific studies. However, this technique, due to high production cost and the destructive effect of organogelators at high temperatures on the fatty acid profile of the oils, is problematic in the food industry. Unlike oleogels, emulsion hydrogel creation is cheap, simple and requires lower temperatures. Hence, this approach is suitable for heat-sensitive or bioactive compounds that undergo oxidative degradation. Moreover, emulsion hydrogels contain  $\leq 50\%$  oil. Thus, they improve the fatty acid profile and also effectively reduce the total fat and caloric content in modified meat products. Furthermore, this method allows for the incorporation of both hydrophilic and hydrophobic functional components into the hydrogel matrix [1]. Researchers have used various emulsifiers, biocomposites, and polysaccharides to create emulsion hydrogels that may be used as fat substitutes. Konjac flour, which is a low-calorie ingredient, has been proposed as a promising biocomposite, as it has been successfully used in dry sausages as a fat substitute in pork [4], salchichón enriched with n-3 [5], and pork liver pates [6].

Current trends in the production of functional foods include the designs of products with lower fat content or with additional health benefits using bioactive compounds and dietary fiber. Açaí berries are a popular bioactive additive, due to their antioxidant, antilipidemic, anti-inflammatory, and antiproliferative activities; açaí berries have been classified as a "superfood" [7,8]. In contrast, dietary fibre is one of the most common functional ingredients in foods. The incorporation of fiber into meat can increase the daily intake of dietary fiber with food, which is recommended to be  $>25$  g/day. Clinical and epidemiological studies have shown that dietary fiber can increase the feeling of satiety. Moreover, fiber has been shown to reduce hyperlipidaemia, total cholesterol, and the risk of cancer occurrence, as well as to improve glucose tolerance and gastrointestinal health [9]. Flaxseed flour is another ingredient that possesses health-promoting properties, which contains numerous functional compounds. Flaxseed has a favorable profile of fatty acids (polyunsaturated fatty acids) and is a rich source of dietary fiber, protein, and antioxidants (lignans). Moreover, flaxseed is gluten free and can be used to enrich the diet of people suffering from celiac disease [10].

Therefore, the aim of this study was to develop a healthier burger recipe by using a hydrogel emulsion and to study its effect on chemical and physical parameters of raw and grilled meat during storage. To the best of our knowledge, according to the literature, this type of low-fat burger formulation has not yet been tested.

## 2. Results and Discussion

### 2.1. Effect of Encapsulated Safflower Oil Concentration on the Physical Characteristics of Emulsion Hydrogel

#### 2.1.1. Texture and Rheological Analysis

The values of the hydrogel texture parameters with safflower oil concentrations of 29–48% and a control without oil (0%) are shown in Table 1. The values for the firmness parameter ranged from 5.65 (N) to 11.91 (N). The encapsulated oil content (29%, 33%, and 38%) in the hydrogel emulsion resulted in a statistically significant increase in firmness; a similar trend was observed for the lubricity parameter, where the highest value was 11.22 ( $N \times n$ ). The viscosity and adhesion parameters decreased with increasing oil concentration up to 38%. In contrast, the addition of 42%, 45%, and 48% oil increased these parameters ( $p < 0.05$ ). Hence, the obtained analysis showed that oil concentration influenced the hydrogel texture parameters [11,12].

**Table 1.** Effect of oil concentration on the hydrogel texture parameters.

| Oil (%) | Firmness (N)               | Lubricity (N × s)           | Viscosity (N)               | Adhesiveness (N × s)        |
|---------|----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|
| 0       | 5.65 ± 0.34 <sup>A</sup>   | 4.81 ± 0.39 <sup>A</sup>    | −3.38 ± 0.21 <sup>D</sup>   | −1.02 ± 0.04 <sup>E</sup>   |
| 29      | 10.15 ± 0.44 <sup>C</sup>  | 9.41 ± 0.55 <sup>C,D</sup>  | −6.01 ± 0.59 <sup>C</sup>   | −2.10 ± 0.25 <sup>B,C</sup> |
| 33      | 11.17 ± 0.69 <sup>D</sup>  | 10.37 ± 1.02 <sup>D,E</sup> | −7.03 ± 0.56 <sup>B</sup>   | −2.42 ± 0.29 <sup>B</sup>   |
| 38      | 11.91 ± 0.43 <sup>D</sup>  | 11.22 ± 0.61 <sup>E</sup>   | −8.03 ± 0.30 <sup>A</sup>   | −2.45 ± 0.32 <sup>A</sup>   |
| 42      | 10.20 ± 1.03 <sup>C</sup>  | 9.17 ± 1.04 <sup>C</sup>    | −7.10 ± 0.69 <sup>B</sup>   | −1.90 ± 0.35 <sup>C,D</sup> |
| 45      | 9.31 ± 0.61 <sup>B,C</sup> | 8.66 ± 0.90 <sup>B,C</sup>  | −6.61 ± 0.24 <sup>B,C</sup> | −1.87 ± 0.41 <sup>C,D</sup> |
| 48      | 8.89 ± 1.16 <sup>B</sup>   | 8.07 ± 1.10 <sup>B</sup>    | −6.37 ± 0.82 <sup>C</sup>   | −1.47 ± 0.66 <sup>D</sup>   |

<sup>A–E</sup>—Mean values between variants in the same column indicated by different letters indicate a statistically significant difference.

The analysis of the rheological parameters of the hydrogel with encapsulated safflower oil are shown in Table 2. The analyzed samples all behaved as non-Newtonian, pseudoplastic liquids. Based on the Ostwald–de Waele model fitted to the upper flow curves and *n* values obtained, it was determined that the addition of oil to the hydrogel emulsion promoted a statistically significant increase in pseudoplasticity. The addition of oil increased the shear stress, which was characterized by a higher shear resistance. This was confirmed by a statistically significant increase in the consistency coefficient (*K*) value. The highest *K* value was recorded for the sample with 38% oil (139.42 (Pa × s<sup>*n*</sup>)). A further increase in oil concentration of the hydrogel decreased the *K* value. A similar trend was observed for the thixotropy parameter. The report by Cano et al. [13] showed that an increase in the lipid phase content in the studied emulsion increased the *K* parameter.

**Table 2.** Parameters of the Ostwald–de Waele rheological model and area of the hysteresis loop of the hydrogel with encapsulated safflower oil.

| Oil (%) | Ostwald–de Waele Model                 |                            |                       | Area of Hysteresis Loop (Pa × s) |                                    |
|---------|----------------------------------------|----------------------------|-----------------------|----------------------------------|------------------------------------|
|         | <i>K</i> (Pa × s <sup><i>n</i></sup> ) | <i>n</i> (–)               | <i>R</i> <sup>2</sup> | Thixotropy                       | Area                               |
| 0       | 53.51 ± 2.18 <sup>A</sup>              | 0.34 ± 0.02 <sup>D</sup>   | 0.98 ± 0.01           | 1157.33 ± 52.45 <sup>A</sup>     | 26,801.67 ± 1615.65 <sup>A</sup>   |
| 29      | 117.05 ± 2.33 <sup>B,C</sup>           | 0.25 ± 0.02 <sup>A,B</sup> | 0.97 ± 0.02           | 3566.67 ± 76.48 <sup>B</sup>     | 41,850.00 ± 1800.13 <sup>B,C</sup> |
| 33      | 125.92 ± 1.79 <sup>E</sup>             | 0.24 ± 0.04 <sup>A,B</sup> | 0.97 ± 0.01           | 4516.00 ± 124.61 <sup>E</sup>    | 44,446.67 ± 2536.03 <sup>B,C</sup> |
| 38      | 139.42 ± 0.67 <sup>F</sup>             | 0.24 ± 0.02 <sup>A,B</sup> | 0.98 ± 0.01           | 4562.83 ± 167.84 <sup>E</sup>    | 53,178.33 ± 3242.89 <sup>D</sup>   |
| 42      | 122.05 ± 2.19 <sup>C</sup>             | 0.21 ± 0.03 <sup>A</sup>   | 0.98 ± 0.01           | 4223.83 ± 109.58 <sup>D</sup>    | 45,855.00 ± 1596.82 <sup>C</sup>   |
| 45      | 120.57 ± 2.11 <sup>C,D</sup>           | 0.23 ± 0.02 <sup>A,B</sup> | 0.97 ± 0.01           | 3980.50 ± 89.72 <sup>C</sup>     | 42,505.00 ± 2921.69 <sup>B,C</sup> |
| 48      | 114.95 ± 2.83 <sup>B</sup>             | 0.26 ± 0.01 <sup>C</sup>   | 0.98 ± 0.01           | 3413.67 ± 93.66 <sup>B</sup>     | 40,705.00 ± 2564.98 <sup>B</sup>   |

<sup>A–F</sup>—Mean values between variants in the same column indicated by different letters indicate a statistically significant difference.

### 2.1.2. SEM and FT-IR Analysis

Figure 1 shows the FT-IR spectra of the analyzed hydrogels with encapsulated safflower oil. The absorbance band characteristics of the oil were recorded for 45% and 0% oil content samples. The spectra showed peaks corresponding to the  $-\text{CH}_3$  groups in the range of 1350–1150  $\text{cm}^{-1}$ . The C–O bond stretching vibrations belonging to ester groups consisted of two coupled asymmetric vibrations, i.e., C–C(=O)–O and O–C–C, which were observed between 1300 and 1000  $\text{cm}^{-1}$ . The bands corresponding to C–C(=O)–O vibrations of saturated esters were found between 1240 and 1163  $\text{cm}^{-1}$ , whereas unsaturated esters were observed at lower wave numbers. The vibrational bands of the O–C–C bonds from esters of primary alcohols were found at 1064–1031  $\text{cm}^{-1}$  and from secondary alcohols at 1100  $\text{cm}^{-1}$ , both types of esters were present in triacylglycerol molecules [14]. The low-intensity band at 1390  $\text{cm}^{-1}$  was related to C–H combination vibrations. The bands at 1726  $\text{cm}^{-1}$  and 1760  $\text{cm}^{-1}$  corresponded to C–H stretching vibrations of the methyl, methylene and ethylene groups. The band at 1725  $\text{cm}^{-1}$  corresponded to oleic acid, while saturated and trans-unsaturated triacylglycerols exhibited absorption bands at 1725  $\text{cm}^{-1}$  and 1760  $\text{cm}^{-1}$ . The band at 2145  $\text{cm}^{-1}$  was related to C–C and C–H stretching

vibrations, and the following vibrations at 2952, 2921, and 2855  $\text{cm}^{-1}$  corresponded to the valence  $\text{C-H}$  vibrations from  $\text{-CH}_3$  and  $\text{-CH}_2$  groups of triglycerides, respectively [15]. The results indicated that the encapsulation process had no effect on the oil's structure.

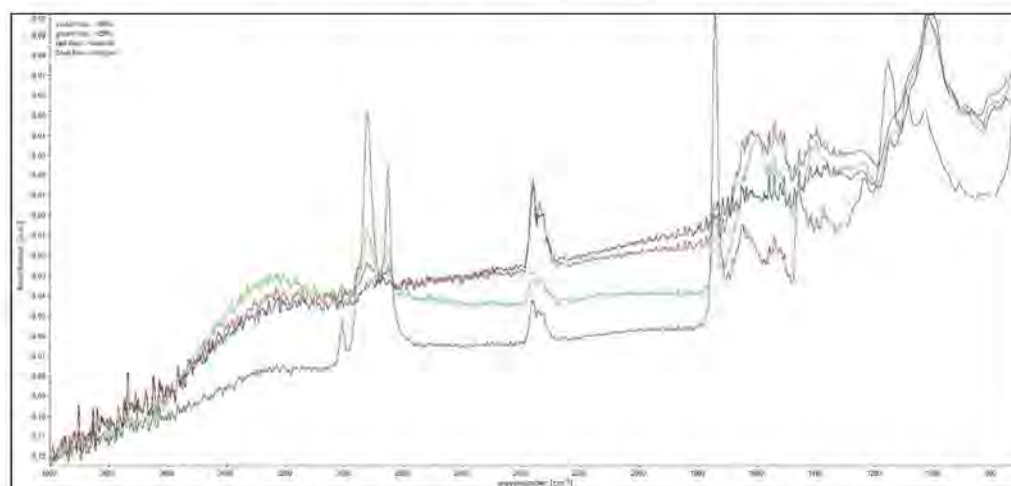


Figure 1. FT-IR analysis of hydrogels with encapsulated safflower oil.

The images of scanning electron microscope SEM are shown in Figure 2 and show that nanocapsules were successfully obtained in a polysaccharide matrix. The size and shape of the capsules varied depending on the oil concentration. The results indicated that, in the case of 29% and 33% oil content samples, the capsule envelope was multi-layered (Figure 2A,B). The size of the capsules decreased with increasing oil concentration (Figure 2C,D). The capsules in the hydrogel emulsion were present throughout the matrix and their distribution was uniform.

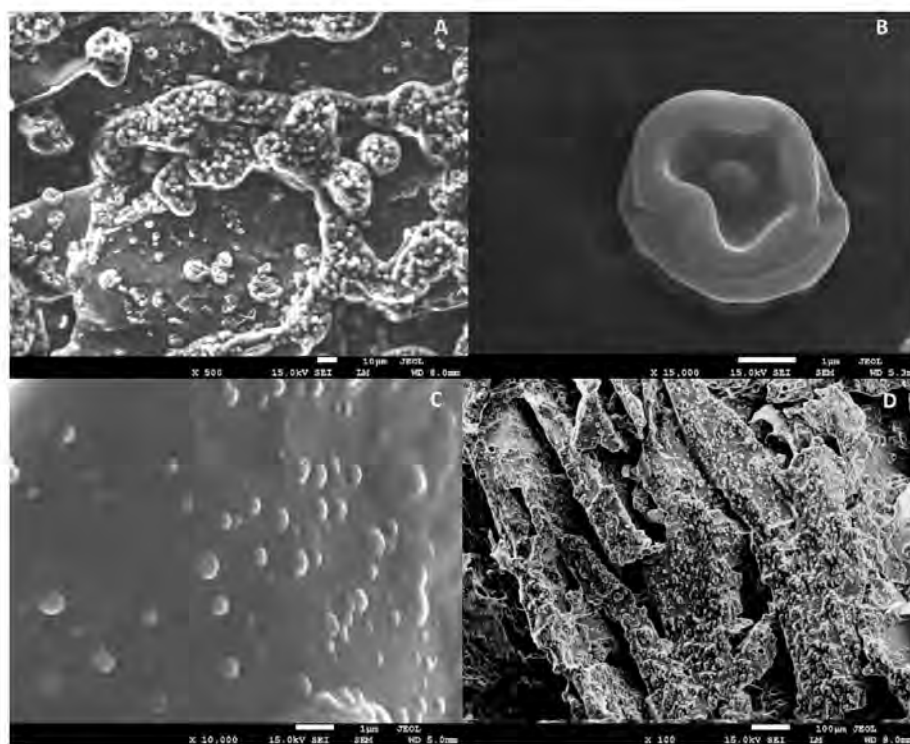
Despite slight statistical differences in the tested variants, the hydrogels with concentrations ranging from 29% to 45% were characterized with similar texture parameters. A 48% oil content was too high and differed significantly from other concentrations. Furthermore, the success of hydrogel applications in food depends largely on the ability of the oleogelator to form a network that traps liquid oil [16]. Therefore, the hydrogel with 45% concentration encapsulated oil was selected for further study as a fat substitute.

### 2.1.3. Biochemical Analysis of Oil and Açaí Extract

The results of the TPC analysis and antioxidant activity of oil and açaí extract are shown in Table 3. The concentration of the extract used in the main study was determined based on the study conducted by Mokhtar et al. [17]. Safflower oil containing polyphenols accounted for 0.27 mg gallic acid/g of oil, whereas the antioxidant activity was 0.09 mg ascorbic acid/g of oil according to the ABTS analysis and 0.32 mg ascorbic acid/g of oil according to the FRAP analysis. Nimrouzi et al. [18] reported similar results.

The fatty acid profile analysis showed that safflower oil was characterized by a high PUFA content, especially n-6. This result was also confirmed by a study conducted by Rutkowska et al. [19].





**Figure 2.** SEM analysis of hydrogels with encapsulated oil: (A,B) Concentration of 29%; (C,D) concentration in the range of 45%.

**Table 3.** Characteristics of açai extract and safflower oil.

|                                     | Safflower Oil | Açai Extract  |
|-------------------------------------|---------------|---------------|
| TPC (mg gallic acid/g of sample)    | 0.27 ± 0.011  | 31.36 ± 1.220 |
| ABTS (mg ascorbic acid/g of sample) | 0.09 ± 0.003  | 50.54 ± 0.296 |
| FRAP (mg ascorbic acid/g of sample) | 0.32 ± 0.004  | 38.05 ± 1.268 |
| Fatty acid profile (%)              |               |               |
| SFA                                 |               | 10.88 ± 1.36  |
| MUFA                                |               | 9.74 ± 1.13   |
| PUFA                                |               | 79.19 ± 0.95  |
| Σn-6                                |               | 78.91 ± 0.98  |
| Σn-3                                |               | 0.15 ± 0.02   |

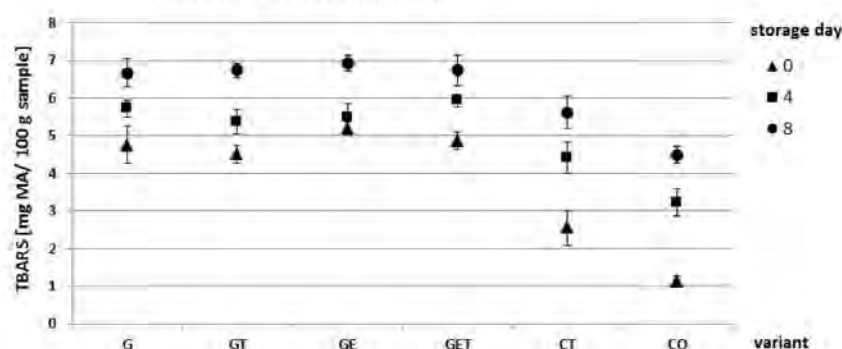
TPC—total phenolic compounds; ABTS—2,2′-azino-bis-3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonic acid; FRAP—ferric reducing antioxidant power; SFA—saturated fatty acid; MUFA—monounsaturated fatty acid; PUFA—polyunsaturated fatty acid.

## 2.2. Main Study

### 2.2.1. TBARS Analysis

A TBARS analysis is a commonly used indicator of oxidative lipid rancidity in meat, which quantifies the amount of secondary oxidation products. The analysis of the lipid peroxidation content in the studied burgers after 0, 4, and 8 days of storage is shown in Figure 3. The results indicated that, depending on the day of storage and variant, the lipid peroxidation content ranged from 1.14 to 6.92 mg MA/100 g sample. At Day 0, depending

on the variant used, the lipid oxidation values ranged from 1.14 (CO) to 5.2 mg MA/100 g sample (GE), hence, the application of a fat substitute in the form of a hydrogel with encapsulated oil and flaxseed flour increased the TBARS values as compared with the control variants (CT and CO). This result was probably due to the presence of flaxseed flour which contained high PUFA levels [20]. The defatted flaxseed flour used in the experiment contained 10 g of fat per 100 g of flour. The manufacturing process of the flaxseed flour could have influenced the generation of free radicals, aldehydes, and ketones upon exposure of PUFAs to light, heat, and oxygen. A study performed by Hautrive et al. [9] revealed that the addition of defatted flaxseed flour elevated TBARS values as compared with a control variant. Furthermore, our results showed that between 0 and 4 days of storage, the highest increase in lipid oxidation (1.85–2.08) was observed in CT and CO. Therefore, using a fat substitute in the form of gel (konjac flour and sodium alginate) with encapsulated oil and flaxseed flour (G, GT, GE, and GET) exerted a positive effect on the reduction in the peroxidation rate. Thus, structuring the added fat significantly reduced the TBARS value ( $p < 0.05$ , Figure 3) as compared with the product containing animal or vegetable fat [21]. Additionally, our research showed that the MA value increased with storage time, regardless of variant type. As a result, lipid oxidation contributed to the development of rancidity while reducing the quality of meat products during storage [22]. The threshold value that dictates the loss of sensory quality of food is  $>1.0$  mg malondialdehyde/kg burger [23]. In our case, despite the observed increase in fat oxidation, all values obtained were below the threshold value.



**Figure 3.** Analysis of lipid oxidation (TBARS) in burgers with a fat substitute after 0, 4, and 8 days of storage. G—encapsulated oil; GT—encapsulated oil + tallow; GE—encapsulated oil with açai extract; GET—encapsulated oil with açai extract + tallow; CT—control with tallow; CO—control with oil.

#### 2.2.2. Color and pH Analysis

The pH parameter of meat can affect certain characteristics such as color, flavor, aroma, tenderness, and nutritional value. An analysis of the meat pH parameter was carried out on raw burgers after each storage time. Table 4 lists the obtained pH values, which, depending on the variant and storage time, range from 5.56 to 5.81. The addition of a hydrogel and flaxseed flour contributed to the observed increase in pH on Day 0 as compared with the controls (CT and CO). This effect was possibly due to the addition of fiber in the form of flaxseed flour. Hautrive et al. [9] and Sánchez-Zapata et al. [24] also reported higher pH values in modified fiber burgers as compared with control variants. Our study demonstrated that the addition of tallow to the studied meat increased the pH values of the burgers more than the addition of safflower oil (5.64, respectively, 5.56  $p < 0.05$ ). The observed increase on Day 4 of storage, especially in the G, GT, GE, and GET variants, may have been due to the accumulation of volatile bases such as trimethylamine and ammonia, which formed during protein hydrolysis and amino acid degradation by endogenous enzymes or microorganisms [25].

**Table 4.** Effect of fat substitute in the form of a hydrogel with encapsulated safflower oil, açai extract, and linseed flour on color parameters, browning index (BI), and pH in raw and grilled burgers at 0, 4, and 8 days of storage.

| Variant | Day | Raw                            |                               |                              |                               |                          |
|---------|-----|--------------------------------|-------------------------------|------------------------------|-------------------------------|--------------------------|
|         |     | L*                             | a*                            | b*                           | BI                            | pH                       |
| G       | 0   | 44.5 ± 2.85 <sup>B,C,b</sup>   | 22.6 ± 2.36 <sup>B</sup>      | 14.7 ± 1.52 <sup>A,B,b</sup> | 75.32 ± 6.83 <sup>A</sup>     | 5.70 ± 0.04 <sup>C</sup> |
| GT      |     | 46.2 ± 3.06 <sup>A,b</sup>     | 22.7 ± 2.80 <sup>B</sup>      | 15.2 ± 1.52 <sup>A,b</sup>   | 74.20 ± 7.75 <sup>A,B</sup>   | 5.71 ± 0.04 <sup>C</sup> |
| GE      |     | 45.0 ± 3.25 <sup>A,B,a,b</sup> | 21.9 ± 1.93 <sup>B</sup>      | 14.7 ± 2.01 <sup>A,B,b</sup> | 73.38 ± 5.89 <sup>A,B</sup>   | 5.72 ± 0.03 <sup>C</sup> |
| GET     |     | 43.2 ± 3.02 <sup>C,D,c</sup>   | 22.8 ± 2.20 <sup>B,b</sup>    | 14.0 ± 1.50 <sup>B,a</sup>   | 75.57 ± 7.24 <sup>A</sup>     | 5.71 ± 0.05 <sup>C</sup> |
| CT      |     | 42.0 ± 2.66 <sup>D,E,b</sup>   | 24.1 ± 1.81 <sup>A</sup>      | 11.5 ± 0.97 <sup>C</sup>     | 71.30 ± 7.18 <sup>B,a</sup>   | 5.64 ± 0.04 <sup>A</sup> |
| CO      |     | 40.4 ± 2.40 <sup>E,b</sup>     | 22.0 ± 1.61 <sup>B,a</sup>    | 10.4 ± 0.86 <sup>D</sup>     | 67.10 ± 5.54 <sup>C,a</sup>   | 5.56 ± 0.04 <sup>B</sup> |
| G       | 4   | 44.2 ± 3.13 <sup>A,b</sup>     | 22.3 ± 1.87 <sup>A</sup>      | 14.7 ± 1.31 <sup>A,b</sup>   | 75.57 ± 5.06 <sup>A</sup>     | 5.81 ± 0.06 <sup>C</sup> |
| GT      |     | 45.3 ± 4.24 <sup>A,b</sup>     | 22.3 ± 2.45 <sup>A</sup>      | 14.6 ± 1.9 <sup>A,b</sup>    | 73.42 ± 7.15 <sup>A</sup>     | 5.77 ± 0.03 <sup>C</sup> |
| GE      |     | 43.7 ± 3.85 <sup>A,b</sup>     | 21.6 ± 2.09 <sup>A,B</sup>    | 14.0 ± 1.5 <sup>A,b</sup>    | 73.09 ± 7.35 <sup>A</sup>     | 5.76 ± 0.05 <sup>C</sup> |
| GET     |     | 44.9 ± 3.78 <sup>A,b</sup>     | 21.8 ± 2.32 <sup>A,B,a</sup>  | 14.4 ± 1.52 <sup>A,a,b</sup> | 72.87 ± 8.00 <sup>A</sup>     | 5.76 ± 0.05 <sup>C</sup> |
| CT      |     | 41.4 ± 3.64 <sup>B,b</sup>     | 22.8 ± 2.29 <sup>A,b</sup>    | 11.0 ± 1.42 <sup>B</sup>     | 68.89 ± 7.57 <sup>B,a</sup>   | 5.63 ± 0.09 <sup>A</sup> |
| CO      |     | 41.0 ± 3.06 <sup>B,b</sup>     | 20.8 ± 1.68 <sup>B,b</sup>    | 10.2 ± 1.11 <sup>C</sup>     | 63.50 ± 6.32 <sup>C,b</sup>   | 5.57 ± 0.07 <sup>B</sup> |
| G       | 8   | 46.9 ± 3.16 <sup>a</sup>       | 22.7 ± 2.18 <sup>A</sup>      | 16.3 ± 1.51 <sup>A,a</sup>   | 76.35 ± 6.28 <sup>A</sup>     | 5.73 ± 0.04 <sup>B</sup> |
| GT      |     | 48.6 ± 3.55 <sup>a</sup>       | 21.1 ± 2.47 <sup>A</sup>      | 16.6 ± 1.45 <sup>A,a</sup>   | 72.36 ± 6.68 <sup>A</sup>     | 5.73 ± 0.03 <sup>B</sup> |
| GE      |     | 46.9 ± 3.02 <sup>a</sup>       | 21.1 ± 1.15 <sup>A</sup>      | 16.0 ± 1.51 <sup>A,a</sup>   | 73.44 ± 5.66 <sup>A</sup>     | 5.75 ± 0.01 <sup>B</sup> |
| GET     |     | 47.5 ± 4.00 <sup>a</sup>       | 20.9 ± 2.54 <sup>A,a,c</sup>  | 15.4 ± 1.69 <sup>A,b</sup>   | 70.18 ± 8.77 <sup>A</sup>     | 5.75 ± 0.03 <sup>B</sup> |
| CT      |     | 46.9 ± 6.54 <sup>a</sup>       | 18.5 ± 2.94 <sup>B,b</sup>    | 10.9 ± 1.76 <sup>B</sup>     | 55.01 ± 11.42 <sup>B,b</sup>  | 5.58 ± 0.03 <sup>A</sup> |
| CO      |     | 44.9 ± 5.44 <sup>a</sup>       | 18.6 ± 2.03 <sup>B,c</sup>    | 10.8 ± 1.51 <sup>B</sup>     | 56.83 ± 7.73 <sup>B,c</sup>   | 5.58 ± 0.03 <sup>A</sup> |
| Grilled |     |                                |                               |                              |                               |                          |
|         |     | L*                             | a*                            | b*                           | BI                            |                          |
| G       | 0   | 52.2 ± 1.68 <sup>A</sup>       | 7.4 ± 0.75 <sup>A,B,a,b</sup> | 13.5 ± 0.395 <sup>A</sup>    | 39.87 ± 2.66 <sup>A,b</sup>   |                          |
| GT      |     | 52.7 ± 1.71 <sup>A</sup>       | 7.0 ± 0.40 <sup>A,a</sup>     | 13.7 ± 1.25 <sup>A</sup>     | 39.27 ± 2.38 <sup>A</sup>     |                          |
| GE      |     | 51.4 ± 1.92 <sup>A,a</sup>     | 7.3 ± 0.81 <sup>A,B,a</sup>   | 12.6 ± 1.47 <sup>A,a</sup>   | 38.09 ± 2.95 <sup>A,b</sup>   |                          |
| GET     |     | 52.7 ± 1.38 <sup>A,a</sup>     | 7.3 ± 0.56 <sup>A,B,a</sup>   | 13.5 ± 1.32 <sup>A</sup>     | 39.27 ± 2.80 <sup>A,b</sup>   |                          |
| CT      |     | 51.6 ± 2.25 <sup>A</sup>       | 7.7 ± 1.00 <sup>B,a</sup>     | 10.0 ± 0.88 <sup>B,a</sup>   | 32.18 ± 1.75 <sup>B,a</sup>   |                          |
| CO      |     | 49.1 ± 2.37 <sup>B,a</sup>     | 7.9 ± 0.66 <sup>B</sup>       | 9.8 ± 0.62 <sup>B,a</sup>    | 33.72 ± 2.53 <sup>B,a</sup>   |                          |
| G       | 4   | 52.5 ± 1.61                    | 7.0 ± 0.41 <sup>A,C,b</sup>   | 13.0 ± 0.84 <sup>A</sup>     | 37.83 ± 1.69 <sup>B,b</sup>   |                          |
| GT      |     | 52.3 ± 2.378                   | 7.3 ± 0.45 <sup>A,b</sup>     | 13.7 ± 1.30 <sup>A</sup>     | 40.03 ± 2.32 <sup>A</sup>     |                          |
| GE      |     | 53.9 ± 1.81 <sup>b</sup>       | 6.7 ± 0.35 <sup>C,D,b,c</sup> | 13.7 ± 1.16 <sup>A,b</sup>   | 37.96 ± 2.87 <sup>B,b</sup>   |                          |
| GET     |     | 53.3 ± 1.85 <sup>a</sup>       | 6.2 ± 0.50 <sup>D,b</sup>     | 13.9 ± 0.62 <sup>A</sup>     | 38.43 ± 2.16 <sup>A,B,b</sup> |                          |
| CT      |     | 53.1 ± 2.04                    | 7.1 ± 0.45 <sup>A,C,b</sup>   | 9.6 ± 1.04 <sup>B,a</sup>    | 29.23 ± 1.94 <sup>D,b</sup>   |                          |
| CO      |     | 51.0 ± 1.44 <sup>b</sup>       | 7.8 ± 0.23 <sup>B</sup>       | 9.4 ± 0.55 <sup>B,b,c</sup>  | 31.21 ± 1.80 <sup>C,b</sup>   |                          |
| G       | 8   | 51.4 ± 4.93 <sup>A</sup>       | 10.7 ± 5.29 <sup>A,a</sup>    | 12.7 ± 1.73 <sup>A</sup>     | 43.74 ± 9.60 <sup>A,a</sup>   |                          |
| GT      |     | 52.7 ± 2.38 <sup>A</sup>       | 7.7 ± 0.72 <sup>A,b</sup>     | 13.6 ± 1.10 <sup>A</sup>     | 40.02 ± 2.54 <sup>B</sup>     |                          |
| GE      |     | 48.6 ± 4.44 <sup>B,C,a</sup>   | 6.8 ± 0.59 <sup>B,a,c</sup>   | 13.5 ± 1.14 <sup>A,b</sup>   | 42.62 ± 4.18 <sup>A,B,a</sup> |                          |
| GET     |     | 51.0 ± 2.12 <sup>A,C,b</sup>   | 7.0 ± 0.56 <sup>B,a</sup>     | 13.7 ± 0.85 <sup>A</sup>     | 41.03 ± 2.60 <sup>A,B,a</sup> |                          |
| CT      |     | 52.2 ± 1.40 <sup>A</sup>       | 8.1 ± 0.63 <sup>A,a</sup>     | 9.0 ± 0.80 <sup>B,b</sup>    | 29.84 ± 2.10 <sup>D,b</sup>   |                          |
| CO      |     | 47.6 ± 1.64 <sup>B,c</sup>     | 8.0 ± 0.37 <sup>A</sup>       | 9.6 ± 0.70 <sup>B,a,c</sup>  | 34.54 ± 1.97 <sup>C,a</sup>   |                          |

<sup>A–E</sup> Mean values between variants on the same storage day with different letters indicate a significant difference. <sup>a–c</sup> Mean values of the same variants between storage day with different letters indicate a significant difference. G—encapsulated oil; GT—encapsulated oil + tallow; GE—encapsulated oil with açai extract; GET—encapsulated oil with açai extract + tallow; CT—control with tallow; CO—control with oil. L\*—lightness; a\*—redness; b\*—yellowness; BI—browning index.

The effects of hydrogel with encapsulated safflower oil and flaxseed flour on the color parameters of grilled and raw burgers after 0, 4, and 8 days of storage are shown in Table 4. The color parameter of meat influences the willingness of consumers to buy a product due to a growing appreciation for bright red products. The color parameter was significantly affected by storage time and formulation ingredients. The values of the L\* parameter in raw burgers increased with increasing storage time regardless of the variant type. A similar trend

was observed by Carvalho et al. [26]. However, as compared with the  $L^*$  color parameter on Day 4, the control variants (CT and CO) had lower values ( $p < 0.05$ ) than the experimental variants (G, GT, GE, and GET). This trend was also observed for  $a^*$  and  $b^*$  parameters on Days 4 and 8. Furthermore, the addition of açai extract (GE and GET) had no significant effect on the color parameter regardless of storage time. The fat substitute with microencapsulated oil and flaxseed flour contributed to an improved color parameter of raw burgers after Days 4 and 8 of storage. The analysis of the browning index showed that for both raw and grilled meat, the BI was higher in the G, GT, GE, and GET groups. Probably this effect was caused by the addition of flaxseed flour, which was characterized by a brown color. The color analysis performed on the grilled burgers after each storage day showed no differences among the variants. This was also confirmed by Summo et al. [27] and Gök et al. [28]. However, in the case of the study reported by Lucas-González et al. [29], an increase in the  $a^*$  color parameter and a decrease in the  $L^*$  color parameter in grilled burgers with a fat substitute (chestnut flour, emulsion gel, and chia oil) were noted. Grilling changed the color of the meat due to heat-induced denaturation of myoglobin. Currently, the role of fat type used for grilled burger formulation is not fully understood, but it should have less of an effect on the color than other parameters such as storage conditions or pH [27].

### 2.2.3. TPA Analysis

Texture changes (chewiness, springiness, and hardness) that occur in meat products as a result of replacing animal fat with vegetable fats are becoming an interesting area of research, especially because texture is importance in sensory attributes. The TPA analysis of the grilled burgers is shown in Table 5. The texture parameter values, regardless of variant used and storage time, were significantly ( $p < 0.05$ ) lower (5.3–15.0 (N)) than those of the control samples (24.8–90.9 (N)). This was also observed by Afshari et al. [30], where a fat substitute was applied as an emulsion of soy protein, inulin,  $\beta$ -glucan, canola oil, and olive oil. Similarly, Lucas-González et al. [29] showed that as the degree of fat substitute (chestnut flour emulsion gel and chia oil in pork burgers) increased, texture parameters decreased as compared with control samples. However, Moghtadaei et al. [31] applied a hydrogel (sesame oil and ethyl cellulose) as a fat substitute in a burger and observed the opposite effect as compared with our results. According to the literature, there are many conflicting reports regarding the effect of hydrogel type on the texture parameters of grilled burgers. These differences may occur due to the method of vegetable oil incorporation into the product, its concentration, and the type of hydrogel used [32]. The grilled burgers (G, GT, GE, and GET) had lower hardness values than that of the CT and CO samples. As expected, the grilling process increased hardness of the control samples due to protein denaturation, water loss, and fat loss [33]. In general, the hardness of meat products is related to the size of the fat molecules therein, allowing the formation of an interfacial protein film around the fat globules by salt-soluble proteins (actin, myosin). Thus, an exponential relationship exists between the size of fat globules and the amount of interfacial protein layer [34,35]. In the case of the studied hydrogel, the fat was encapsulated in a polymer blend, whereas in the control samples, an interfacial protein film likely formed and denaturation occurred because of grilling. The variation in hardness between the control samples was probably due to the amount of interfacial protein layer formed, the type of fat used (beef tallow in tissue form, liquid vegetable oil), and its thermal stability. The higher thermal stability of the hydrogel contributed to a greater decrease in hardness of the product after grilling as compared with beef fat or safflower oil. In addition, the values of grilled burger parameters such as springiness and cohesiveness decreased with increasing storage time, whereas the values of chewiness and firmness parameters increased. This effect was related to natural leakage in burgers, which consequently influenced texture parameters [36]. From the consumer's point of view, reductions in hardness or chewiness parameters are considered to be a favorable characteristics due to their association with enhanced meat quality of the burger [29].

**Table 5.** Effect of a hydrogel emulsion with capsulated safflower oil, açai extract, and linseed flour as a fat substitute, on texture parameters (TPA) of grilled burgers at 0, 4, and 8 days of storage.

| Variant | Springiness (–)           | Chewiness (N)                | Cohesiveness (–)           | Hardness (N)                  |
|---------|---------------------------|------------------------------|----------------------------|-------------------------------|
| G       | 0.4 ± 0.20                | 0.6 ± 0.26 <sup>B,a,b</sup>  | 0.1 ± 0.04 <sup>C,a</sup>  | 6.4 ± 1.59 <sup>B</sup>       |
| GT      | 0.4 ± 0.11 <sup>a</sup>   | 0.3 ± 0.17 <sup>B</sup>      | 0.0 ± 0.05 <sup>B,C</sup>  | 5.3 ± 1.23 <sup>B</sup>       |
| GE      | 0.8 ± 0.30 <sup>a</sup>   | 0.4 ± 0.26 <sup>B</sup>      | 0.1 ± 0.04 <sup>B,C</sup>  | 5.5 ± 0.98 <sup>B</sup>       |
| GET     | 0.5 ± 0.2                 | 0.5 ± 0.24 <sup>B</sup>      | 0.1 ± 0.10 <sup>B,C</sup>  | 5.6 ± 1.53 <sup>B</sup>       |
| CT      | 0.9 ± 0.22                | 10.6 ± 2.30 <sup>A,b</sup>   | 0.4 ± 0.03 <sup>A</sup>    | 27.5 ± 5.25 <sup>A,b</sup>    |
| CO      | 0.5 ± 0.12 <sup>a</sup>   | 8.8 ± 1.50 <sup>A,c</sup>    | 0.4 ± 0.04 <sup>A</sup>    | 24.8 ± 1.95 <sup>A,c</sup>    |
| G       | 0.2 ± 0.05 <sup>C</sup>   | 1.0 ± 0.49 <sup>B,a</sup>    | 0.1 ± 0.03 <sup>C,a</sup>  | 9.5 ± 2.16 <sup>B</sup>       |
| GT      | 0.2 ± 0.03 <sup>C,b</sup> | 0.4 ± 0.59 <sup>B</sup>      | 0.0 ± 0.07 <sup>B,C</sup>  | 7.8 ± 2.68 <sup>B</sup>       |
| GE      | 0.1 ± 0.03 <sup>C,b</sup> | 0.5 ± 0.62 <sup>B</sup>      | 0.0 ± 0.07 <sup>B,C</sup>  | 7.9 ± 2.46 <sup>B</sup>       |
| GET     | 0.1 ± 0.04 <sup>C</sup>   | 0.0 ± 0.36 <sup>B</sup>      | 0.0 ± 0.09 <sup>B,C</sup>  | 5.8 ± 1.20 <sup>B</sup>       |
| CT      | 0.4 ± 0.06 <sup>A</sup>   | 17.1 ± 4.73 <sup>A,a,b</sup> | 0.4 ± 0.03 <sup>A</sup>    | 47.3 ± 12.23 <sup>A,a,b</sup> |
| CO      | 0.3 ± 0.04 <sup>B,b</sup> | 21.4 ± 4.25 <sup>A,b</sup>   | 0.4 ± 0.02 <sup>A</sup>    | 58.6 ± 12.04 <sup>A,b</sup>   |
| G       | 0.1 ± 0.03 <sup>C</sup>   | −0.3 ± 0.90 <sup>C,b</sup>   | −0.1 ± 0.14 <sup>B,b</sup> | 10.4 ± 3.34 <sup>C</sup>      |
| GT      | 0.1 ± 0.03 <sup>C,b</sup> | −0.5 ± 0.70 <sup>C</sup>     | −0.1 ± 0.08 <sup>B</sup>   | 10.2 ± 2.51 <sup>C</sup>      |
| GE      | 0.2 ± 0.04 <sup>C,b</sup> | −0.1 ± 0.99 <sup>C</sup>     | 0.0 ± 0.10 <sup>B</sup>    | 11.6 ± 3.93 <sup>C</sup>      |
| GET     | 0.1 ± 0.03 <sup>C</sup>   | 0.5 ± 1.43 <sup>C</sup>      | 0.0 ± 0.12 <sup>B</sup>    | 15.0 ± 7.16 <sup>C</sup>      |
| CT      | 0.5 ± 0.04 <sup>A</sup>   | 19.6 ± 6.80 <sup>B,a</sup>   | 0.3 ± 0.04 <sup>A</sup>    | 58.6 ± 17.54 <sup>B,a</sup>   |
| CO      | 0.3 ± 0.01 <sup>B,b</sup> | 29.1 ± 6.22 <sup>A,a</sup>   | 0.3 ± 0.03 <sup>A</sup>    | 90.9 ± 18.76 <sup>A,a</sup>   |

<sup>A–C</sup> Mean values between variants on the same storage day with different letters indicate a significant difference.

<sup>a–c</sup> Mean values of the same variants between storage day with different letters indicate a significant difference.

G—encapsulated oil; GT—encapsulated oil + tallow; GE—encapsulated oil with açai extract; GET—encapsulated oil with açai extract + tallow; CT—control with tallow; CO—control with oil.

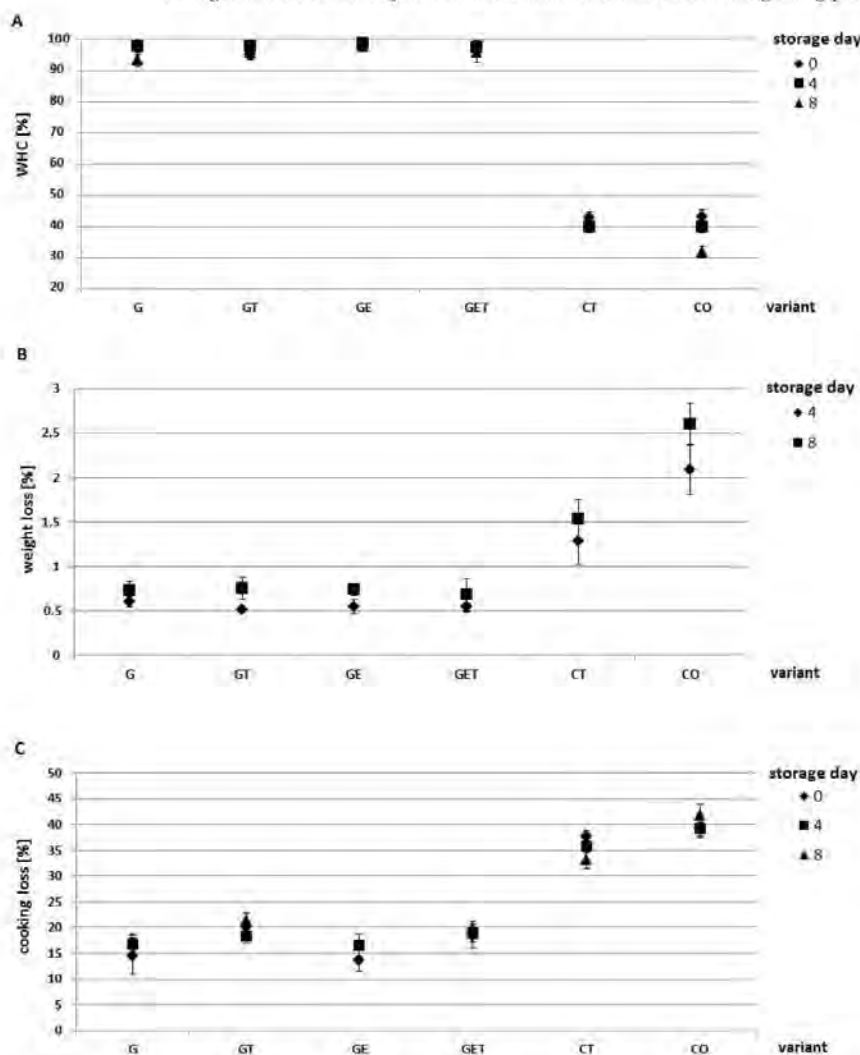
#### 2.2.4. WHC Analysis, Weight Loss, and Cooking Loss Analysis

The food industry demands the appropriate technological properties of a burger related to mass retention after storage and grilling, and therefore, retention of intrinsic water is of key importance. Adequate water retention in meat products not only reduces mass loss, but also causes accumulation of liquid in the package and consequently changes the texture, color, and ultimately, consumer acceptance of the meat product [37]. Figure 4 shows the analysis of water retention in raw and grilled burgers after 0, 4, and 8 days of storage. The values for the variants G, GT, GE, and GET, regardless of storage time, were in the range of 93.5–98.8%. In contrast, the values of the control samples were 31.8–43.2% depending on the period of storage. Our study showed that a fat substitute with flaxseed flour (G, GT, GE, and GET) improved the WHC about 54–60% as compared with those of the control samples, depending on the storage period and variant. A similar trend was observed by Zinina et al. [38], who observed an increased WHC parameter when flaxseed flour was used. In contrast, a study by Sharefiabadi et al. [39] revealed that the addition of flaxseed flour and coconut flour did not improve the WHC parameter in chicken pasties. The difference in the aforementioned studies may have been the type of fat substitute added to the meat products.

The analysis of mass loss conducted in this study showed that mass loss increased with storage time ( $p < 0.05$ ) in the burgers with a fat substitute as well as the control variants. Nevertheless, the G, GT, GE, and GET variants had much lower mass loss (0.5–0.6%) than that of the CT and CO variants (1.3–2.6%). The replacement of fat with a hydrogel (konjac flour and sodium alginate) enriched with encapsulated oil with flaxseed flour helped to reduce mass changes during storage. The significant difference ( $p < 0.05$ ) observed between the tallow and liquid oil controls was possibly due to the form of added fat [40]. Similar trends were observed for grilled samples after 0, 4, and 8 days of storage, where the fat substitute based on konjac flour and sodium alginate enriched with encapsulated safflower oil showed statistically significant ( $p < 0.05$ ) reduction in the percentage mass loss of the burger. A study by Salcedo-Sandaval et al. [41] showed that konjac gel with added oils (olive oil, flaxseed oil, and fish oil) showed lower mass loss after grilling and baking as



compared with control variants. The limiting role in mass changes during grilling was also supported by Moghtadaei et al. [35]. The analysis showed that the addition of tallow (GT and GET) increased the percentage mass loss of the grilled burgers, which could be due to changes in the consistency of the tallow under the influence of the grilling process.



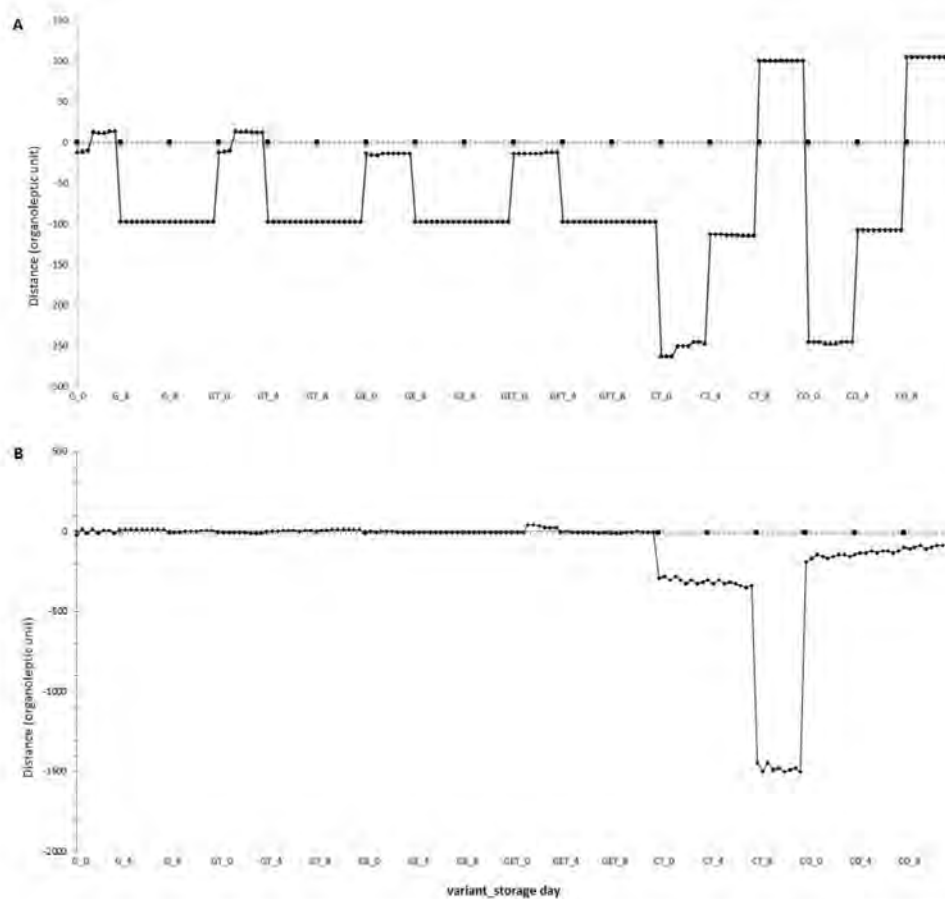
**Figure 4.** Effect of a fat substitute on water retention (WHC) (A); weight loss (B); and cooking loss (C), after 0, 4, and 8 days of storage. G—encapsulated oil; GT—encapsulated oil + tallow; GE—encapsulated oil with açai extract; GET—encapsulated oil with açai extract + tallow; CT—control with tallow; CO—control with oil.

#### 2.2.5. Analysis of the Volatile Compounds Profile

Fat is a precursor to many aromatic compounds, and it also acts as a solvent for these compounds. Changes in the amount and composition of fat can affect the rate and type

of processes that occur during burger storage [1]. The analysis of changes to the profile of volatile compounds in raw and grilled burgers after 0, 4, and 8 days of storage is shown in Figure 5. The obtained results displayed differences in the volatile compounds profile between G and GT, between G and GE, between GET and CT, and between GET and CO variants on Day 0. The data revealed that the presence of the extract affected the aroma profile of the raw burger by reducing the changes in compound growth (Figure 5A), thus, slowing down changes that naturally occur in the burger during storage. The alterations in the volatile compounds profile of burgers with a fat substitute after 4 and 8 days of storage were comparable. The opposite was observed for burgers with tallow and oil, where changes increased with storage time, and the process of changes progressed fastest between 4 and 8 days of storage. In contrast, for grilled burgers (Figure 5B), the variants used showed no difference in the volatile compounds profile regardless of storage time, with only a slight variation at Day 0 in GET. However, this may stem from the presence of both extract and tallow. Fluctuations in volatile compounds profile for the CT variant changed dramatically at Day 8, which was possibly due to the progressive oxidative processes of high tallow content (20%), especially after 4 days of storage. In contrast, the CT variant with safflower oil displayed linear changes, which indicated gradual changes that progressed with storage time.

Table 6 shows the component analysis of the volatile compounds profile of raw burgers with a fat substitute (G, GT, GE, and GET) and control variants (CT and CO) after 0, 4, and 8 days of storage. The analysis revealed that the number of compounds, especially corresponding to aldehydes, alcohols, esters, and ketones, increased with storage time. The addition of oils with increased amounts of unsaturated fatty acids promotes oxidative processes in meat and consequently increases the content of volatile compounds formed by lipid oxidation [26]. Volatile compounds such as alcohols, aldehydes, and ketones are mainly responsible for reducing the sensory quality of meat products [42]. Wantanabe et al. [43] confirmed our findings, where the number of volatile compounds related to alcohols increased with storage time. In contrast, alcohols such as 1-hexanol, 1-pentanol, and 1-octen-3-ol have been considered to be key indicators of lipid oxidation in meat [26]. The component analysis of the volatile compounds profile in grilled burgers was dominated by aldehyde and alcohol group bearing compounds. Emerging compounds such as benzaldehyde, 3-methylbutanal, 2-methylpropanal, pyrazine, and dimethyl sulphide are typical compounds that arise from the Maillard reaction, which is induced by a thermal process [44,45]. The obtained results showed that, apart from lipid degradation and the Maillard reaction, the applied product components were the main factors that influenced the formation of volatile substance characteristics for a particular variant, for example, compounds such as benzeneacetaldehyde, 1-propanol-2-methyl, and pyrazine for variants G, GT, GE, and GET; pentan-2-ol for GE and GET; 2-furanmethanol for CO; and dimethyl sulphide for CT.



**Figure 5.** Changes in the volatile compounds profile of raw burgers (A); grilled burgers (B), after 0, 4, and 8 days of storage ( $4 \pm 1$  °C). G—encapsulated oil; GT—encapsulated oil + tallow; GE—encapsulated oil with açai extract; GET—encapsulated oil with açai extract + tallow; CT—control with tallow; CO—control with oil.



Table 6. Effects of a fat substitute on the volatile compounds profile in raw and grilled burger after 0, 4, and 8 days of storage in cold conditions.

| Volatile Compounds     | Raw Burger |    |    |     |    |    |   |    |    |     |    |    |   |    |    |     |    |    |
|------------------------|------------|----|----|-----|----|----|---|----|----|-----|----|----|---|----|----|-----|----|----|
|                        | 0          |    |    |     |    |    | 4 |    |    |     |    |    | 8 |    |    |     |    |    |
|                        | G          | GT | GE | GET | CT | CO | G | GT | GE | GET | CT | CO | G | GT | GE | GET | CT | CO |
| (E,E) -2,4-hexadienal  |            |    |    |     |    |    |   |    |    |     |    |    |   |    |    |     |    |    |
| 2-Methylpropanal       | +          | +  | +  | +   | +  | +  | + | +  | +  | +   | +  | +  | + | +  | +  | +   | +  | +  |
| 3-Methylbutanal        |            |    |    |     |    |    |   |    |    |     |    |    |   |    |    |     |    |    |
| Benzaldehyde           |            |    |    |     |    |    |   |    |    |     |    |    |   |    |    |     |    |    |
| Benzeneacetaldehyde    |            |    |    |     |    |    |   |    |    |     |    |    |   |    |    |     |    |    |
| Propanal               | +          | +  | +  | +   | +  | +  | + | +  | +  | +   | +  | +  | + | +  | +  | +   | +  | +  |
| 1-Hexanol              |            |    |    |     |    |    |   |    |    |     |    |    |   |    |    |     |    |    |
| 1-Hexen-3-ol           |            |    |    |     |    |    |   |    |    |     |    |    |   |    |    |     |    |    |
| 1-Penten-3-ol          |            |    |    |     |    |    |   |    |    |     |    |    |   |    |    |     |    |    |
| 1-Propanol             | +          | +  | +  | +   | +  | +  | + | +  | +  | +   | +  | +  | + | +  | +  | +   | +  | +  |
| 1-Propanol, 2-methyl   | +          | +  | +  | +   | +  | +  | + | +  | +  | +   | +  | +  | + | +  | +  | +   | +  | +  |
| 2-Nonen-1-ol           |            |    |    |     |    |    |   |    |    |     |    |    |   |    |    |     |    |    |
| Pentan-2-ol            |            |    |    |     |    |    |   |    |    |     |    |    |   |    |    |     |    |    |
| Ethyl 2-methylbutyrate |            |    |    |     |    |    |   |    |    |     |    |    |   |    |    |     |    |    |
| Ethyl isobutyrate      | +          | +  | +  |     | +  | +  |   |    |    |     |    |    |   |    |    |     |    |    |
| Hexyl propionate       |            |    |    |     |    |    |   |    |    |     |    |    |   |    |    |     |    |    |
| Methyl isobutyrate     | +          | +  | +  |     | +  | +  |   |    |    |     |    |    |   |    |    |     |    |    |
| Propyl propanoate      |            |    |    |     |    |    |   |    |    |     |    |    |   |    |    |     |    |    |
| 1-Hexen-3-one          |            |    |    |     |    |    |   |    |    |     |    |    |   |    |    |     |    |    |
| 2,3-Butanediol         |            |    |    |     |    |    |   |    |    |     |    |    |   |    |    |     |    |    |
| Sotolon                |            |    |    |     |    |    |   |    |    |     |    |    |   |    |    |     |    |    |
| Acetic acid            | +          | +  | +  | +   | +  | +  | + | +  | +  | +   | +  | +  | + | +  | +  | +   | +  | +  |
| Pentanoic acid         |            |    |    |     |    |    |   |    |    |     |    |    |   |    |    |     |    |    |
| Propanoic acid         |            |    |    |     |    |    |   |    |    |     |    |    |   |    |    |     |    |    |

Table 6. Cont.

| Volatile Compounds      | Raw Burger |    |    |     |    |    |   |    |    |     |    |    |   |    |    |     |    |    |
|-------------------------|------------|----|----|-----|----|----|---|----|----|-----|----|----|---|----|----|-----|----|----|
|                         | 0          |    |    |     |    |    | 4 |    |    |     |    |    | 8 |    |    |     |    |    |
|                         | G          | GT | GE | GET | CT | CO | G | GT | GE | GET | CT | CO | G | GT | GE | GET | CT | CO |
| Bezyl acetate           |            |    |    |     |    |    |   |    |    |     |    |    |   |    |    |     |    |    |
| Isoamyl acetate         |            |    |    |     |    |    |   |    |    |     |    |    |   |    |    |     |    |    |
| Isopropyl acetate       | +          | +  | +  | +   | +  | +  |   |    |    |     |    |    |   |    |    |     |    |    |
| Alpha-phellandrene      |            |    |    |     |    |    |   |    |    |     |    |    |   |    |    |     |    |    |
| Alphapinene             |            |    |    |     |    |    |   |    |    |     |    |    |   |    |    |     |    |    |
| Limonene                |            |    |    |     |    |    |   |    |    |     |    |    |   |    |    |     |    |    |
| Dimethyl sulfide        |            |    |    |     |    |    |   |    |    |     |    |    |   |    |    |     |    |    |
| 2-Methyl-2-propanethiol |            |    |    |     |    |    |   |    |    |     |    |    |   |    |    |     |    |    |
| Grilled Burger          |            |    |    |     |    |    |   |    |    |     |    |    |   |    |    |     |    |    |
| Volatile compounds      | 0          |    |    |     |    |    | 4 |    |    |     |    |    | 8 |    |    |     |    |    |
|                         | G          | GT | GE | GET | CT | CO | G | GT | GE | GET | CT | CO | G | GT | GE | GET | CT | CO |
|                         | aldehyde   |    |    |     |    |    |   |    |    |     |    |    |   |    |    |     |    |    |
| (E) -3-hexenal          | +          | +  |    |     |    |    | + | +  |    |     |    |    | + | +  |    |     |    |    |
| (E,E) -2,4-hexadienal   | +          | +  |    |     |    |    | + | +  | +  |     |    |    | + | +  |    |     |    |    |
| 2-Methylpropanal        |            |    |    |     |    |    |   |    |    |     |    |    |   |    |    |     |    |    |
| 3-Methylbutanal         |            |    |    |     |    |    |   |    |    |     |    |    |   |    |    |     |    |    |
| Benzaldehyde            |            |    |    |     |    |    |   |    |    |     |    |    |   |    |    |     |    |    |
| Benzeneacetaldehyde     | +          | +  | +  | +   |    |    | + | +  | +  | +   |    |    | + | +  | +  | +   | +  | +  |
| Methional               |            |    |    |     |    |    |   |    |    |     |    |    |   |    |    |     |    |    |
| Propanal                |            |    |    |     |    |    |   |    |    |     |    |    |   |    |    |     |    |    |
| 1-Hexanol               |            |    |    |     |    |    |   |    |    |     |    |    |   |    |    |     |    |    |
| 1-Hexen-3-ol            |            |    |    |     |    |    |   |    |    |     |    |    |   |    |    |     |    |    |
| 1-Propanol              | +          | +  | +  | +   | +  | +  | + | +  | +  | +   | +  | +  | + | +  | +  | +   | +  | +  |
| 1-Propanol, 2-methyl    | +          | +  | +  | +   | +  | +  | + | +  | +  | +   | +  | +  | + | +  | +  | +   | +  | +  |
| 2-Furanmethanol         |            |    |    |     |    |    |   |    |    |     |    |    |   |    |    |     |    |    |
| n-Butanol               |            |    |    |     |    |    |   |    |    |     |    |    |   |    |    |     |    |    |
| Pentan-2-ol             |            |    |    |     |    |    |   |    |    |     |    |    |   |    |    |     |    |    |

Table 6. Cont.

| Volatile compounds      | Grilled Burger |    |                 |     |    |    |   |    |                 |     |    |    |
|-------------------------|----------------|----|-----------------|-----|----|----|---|----|-----------------|-----|----|----|
|                         | G              | GT | GE <sup>0</sup> | GET | CT | CO | G | GT | GE <sup>4</sup> | GET | CT | CO |
| ethyl 2-methylbutyrate  |                |    |                 | +   |    |    |   |    |                 | +   |    |    |
| propyl propanoate       |                |    |                 |     |    |    |   |    |                 |     |    | +  |
| 1-Hexen-3-one           |                |    |                 |     |    |    |   |    |                 |     |    |    |
| 2,3-Butanediol          |                |    |                 |     |    |    |   |    |                 |     |    | +  |
| 2-Acetyl-1-pyrroline    |                |    |                 |     | +  |    |   |    |                 |     | +  | +  |
| Acetophenone            |                |    |                 |     | +  | +  |   |    |                 |     |    | +  |
| 3-Methylbutanoic acid   | +              |    |                 |     |    |    | + |    |                 |     |    |    |
| Acetic acid             |                | +  | +               | +   | +  |    |   | +  |                 | +   |    |    |
| Benzoic acid            |                |    |                 |     |    |    |   |    |                 |     |    | +  |
| Ethyl acetate           | +              | +  | +               | +   |    | +  |   |    | +               | +   |    |    |
| Alpha-phellandrene      |                |    |                 |     |    |    |   |    |                 |     |    |    |
| Alphapinene             |                |    | +               | +   |    | +  |   |    | +               | +   |    | +  |
| Pyrazine                | +              | +  | +               | +   |    |    |   |    | +               | +   | +  | +  |
| Pyrrole                 |                |    |                 |     | +  |    |   |    | +               | +   | +  | +  |
| 2-Methyl-2-propanethiol |                |    |                 |     |    |    |   |    |                 |     |    |    |
| Dimethyl sulfide        |                |    |                 |     | +  |    |   |    | +               | +   | +  | +  |

G—encapsulated oil; GT—encapsulated oil + tallow; GE—encapsulated oil with açai extract; GET—encapsulated oil with açai extract + tallow; CT—control with tallow; CO—control with oil.

### 2.2.6. Analysis of Fatty Acid Profile and Nutritional Indexes AI, TI, and h/H

The analysis of the fatty acid profile and nutritional indexes of raw and grilled burgers after 0, 4, and 8 days of storage are shown in Table 7. The fatty acid profile was influenced by the type of formulation used. The analysis of saturated fatty acids (SFA) and unsaturated fatty acids (MUFA and PUFA) in raw burgers showed that SFA increased and MUFA and PUFA decreased with storage time, regardless of the variant used. Our results were consistent with the theory that as the number of double bonds in a fatty acid increased, the susceptibility to oxidation increased [26]. As predicted, the addition of safflower oil significantly increased the PUFA content of the raw burgers from 1% (CT) to 24% (GET). The analysis of PUFAs and MUFAs in reformulated raw burgers showed that the addition of açai extract (GE) contributed to lower oxidation levels. Carvalho et al. [26] and Rutkowska et al. [46] confirmed a positive effect of extracts (pitanga leaves, guarana seeds, and chokeberry fruit) on reducing the rate of oxidative changes in fat. Safflower oil used in the experiment was characterized by high PUFA content (79%), with an  $n - 6/n - 3$  ratio of 526. In contrast, the applied reformulation of the burger with cassava oil with the addition of flaxseed flour reduced the  $n - 6/n - 3$  ratio by as much as 10-fold (50 for CO and 5 for GE), while maintaining high PUFA values. According to dietary recommendations, this ratio should be 5:4:1 [19]. For other nutritional indexes, it is recommended that meat products should have the lowest possible AI and TI values, while the h/H ratio should be as high as possible [47]. In our study, independent of storage time, the burger variants with the fat substitute used had the lowest AI and TI values as compared with CT. Furthermore, hydrogel emulsion with flaxseed flour significantly increased the h/H ratio from 1.3 (CT) to 2.5 (GE). Considering the indexes of healthiness that were analyzed, the best results were obtained for raw burgers with the addition of açai extract (GE) in relation to hydrogel without extract (G). The correlation analysis among SFA, MUFA, PUFA, and CLA and storage day, showed that SFA had a very high positive correlation (0.736,  $p < 0.05$ ). In contrast, the correlation analysis of MUFA and CLA showed moderately high negative correlations ( $-0.359$  and  $-0.488$ ,  $p < 0.05$ , respectively). In contrast, the PUFA analysis showed no correlation with storage time. The correlations obtained indicated that changes occurred during storage related to the fat oxidation process as a result of which, polyunsaturated acids were converted to a saturated form [26]. The analysis of the fatty acid profile of grilled burgers showed that the use of reformulated burgers contributed to an increase in PUFA content as compared with CT and CO. In addition, usage of hydrogels contributed to lowering  $n - 6/n - 3$  acid ratios, from 24 (CO) to 5 (GE), which was extremely important to maintain proper nutritional standards. Furthermore, the use of reformulation resulted in improved health values of the grilled burger by lowering the AI and TI values and increasing the h/H ratio.

**Table 7.** Effects of a fat substitute (hydrogel emulsion with encapsulated oil and açai extract) on the fatty acid profile of raw and grilled burgers at 0, 4, and 8 days of storage in cold conditions.

|             | Raw Burger               |                            |                          |                          |                          |                          |
|-------------|--------------------------|----------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
|             | G                        | GT                         | GE                       | GET                      | CT                       | CO                       |
| <b>SFA</b>  |                          |                            |                          |                          |                          |                          |
| 0           | 38.2 ± 0.46 <sup>A</sup> | 36.3 ± 2.62 <sup>A,B</sup> | 35.0 ± 0.51 <sup>B</sup> | 38.9 ± 1.00 <sup>A</sup> | 39.4 ± 0.37 <sup>A</sup> | 32.7 ± 0.18 <sup>C</sup> |
| 4           | 41.5 ± 0.16 <sup>B</sup> | 40.7 ± 0.52 <sup>B</sup>   | 41.6 ± 1.61 <sup>B</sup> | 42.7 ± 0.62 <sup>B</sup> | 50.1 ± 0.03 <sup>A</sup> | 37.7 ± 0.29 <sup>C</sup> |
| 8           | 43.8 ± 0.60 <sup>B</sup> | 45.3 ± 1.08 <sup>B</sup>   | 40.3 ± 0.48 <sup>C</sup> | 44.1 ± 1.65 <sup>B</sup> | 50.5 ± 0.64 <sup>A</sup> | 51.6 ± 2.13 <sup>A</sup> |
| <b>MUFA</b> |                          |                            |                          |                          |                          |                          |
| 0           | 35.9 ± 0.26 <sup>D</sup> | 43.4 ± 2.47 <sup>B</sup>   | 39.7 ± 0.32 <sup>B</sup> | 41.2 ± 0.92 <sup>B</sup> | 58.8 ± 0.45 <sup>A</sup> | 37.5 ± 0.42 <sup>C</sup> |
| 4           | 36.7 ± 1.26 <sup>C</sup> | 39.9 ± 0.26 <sup>B</sup>   | 32.5 ± 0.52 <sup>E</sup> | 38.2 ± 0.27 <sup>C</sup> | 48.5 ± 0.01 <sup>A</sup> | 34.2 ± 0.79 <sup>D</sup> |
| 8           | 33.6 ± 1.09 <sup>C</sup> | 36.5 ± 0.51 <sup>B</sup>   | 36.7 ± 0.55 <sup>B</sup> | 37.1 ± 1.32 <sup>B</sup> | 48.0 ± 0.68 <sup>A</sup> | 28.9 ± 1.70 <sup>D</sup> |

Table 7. Cont.

|         |   | Raw Burger                    |                             |                             |                             |                           |                             |
|---------|---|-------------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|---------------------------|-----------------------------|
|         |   | G                             | GT                          | GE                          | GET                         | CT                        | CO                          |
| PUFA    | 0 | 25.4 ± 0.78 <sup>B</sup>      | 19.7 ± 0.12 <sup>C</sup>    | 24.8 ± 0.14 <sup>B</sup>    | 19.5 ± 0.07 <sup>C</sup>    | 1.0 ± 0.02 <sup>D</sup>   | 28.8 ± 0.10 <sup>A</sup>    |
|         | 4 | 21.4 ± 1.39 <sup>C</sup>      | 18.9 ± 0.75 <sup>D</sup>    | 24.0 ± 1.09 <sup>B</sup>    | 18.7 ± 0.67 <sup>D</sup>    | 0.9 ± 0.01 <sup>E</sup>   | 27.6 ± 0.51 <sup>A</sup>    |
|         | 8 | 20.2 ± 1.69 <sup>B</sup>      | 17.7 ± 0.58 <sup>C</sup>    | 22.6 ± 0.10 <sup>A</sup>    | 18.3 ± 0.21 <sup>C</sup>    | 1.0 ± 0.02 <sup>D</sup>   | 19.1 ± 0.44 <sup>B</sup>    |
| CLA     | 0 | 0.46 ± 0.06 <sup>C</sup>      | 0.57 ± 0.04 <sup>B</sup>    | 0.50 ± 0.05 <sup>C</sup>    | 0.49 ± 0.01 <sup>C</sup>    | 0.72 ± 0.06 <sup>A</sup>  | 0.49 ± 0.00 <sup>C</sup>    |
|         | 4 | 0.50 ± 0.02 <sup>A</sup>      | 0.48 ± 0.04 <sup>B</sup>    | 0.38 ± 0.00 <sup>C</sup>    | 0.45 ± 0.00 <sup>B</sup>    | 0.54 ± 0.01 <sup>A</sup>  | 0.40 ± 0.02 <sup>C</sup>    |
|         | 8 | 0.45 ± 0.00 <sup>B</sup>      | 0.41 ± 0.01 <sup>B</sup>    | 0.41 ± 0.03 <sup>B</sup>    | 0.47 ± 0.06 <sup>A,B</sup>  | 0.54 ± 0.02 <sup>A</sup>  | 0.40 ± 0.01 <sup>B</sup>    |
| Σn3     | 0 | 3.24 ± 0.46 <sup>B</sup>      | 3.16 ± 0.06 <sup>B</sup>    | 3.95 ± 0.16 <sup>A</sup>    | 3.25 ± 0.01 <sup>B</sup>    | 0.52 ± 0.01 <sup>C</sup>  | 0.58 ± 0.04 <sup>C</sup>    |
|         | 4 | 3.15 ± 0.69 <sup>A,B</sup>    | 2.69 ± 0.46 <sup>B</sup>    | 3.91 ± 0.16 <sup>A</sup>    | 3.12 ± 0.05 <sup>B</sup>    | 0.46 ± 0.01 <sup>D</sup>  | 0.53 ± 0.01 <sup>C</sup>    |
|         | 8 | 3.33 ± 0.72 <sup>A</sup>      | 2.18 ± 0.07 <sup>B</sup>    | 3.53 ± 0.05 <sup>A</sup>    | 3.15 ± 0.27 <sup>A</sup>    | 0.60 ± 0.07 <sup>C</sup>  | 0.46 ± 0.05 <sup>D</sup>    |
| Σn6     | 0 | 21.98 ± 0.31 <sup>B</sup>     | 16.35 ± 0.11 <sup>C</sup>   | 20.65 ± 0.02 <sup>B</sup>   | 16.00 ± 0.06 <sup>C</sup>   | 0.31 ± 0.02 <sup>D</sup>  | 28.01 ± 0.06 <sup>A</sup>   |
|         | 4 | 18.01 ± 0.69 <sup>C</sup>     | 16.04 ± 0.28 <sup>D</sup>   | 19.88 ± 0.92 <sup>B</sup>   | 15.40 ± 0.62 <sup>D</sup>   | 0.30 ± 0.00 <sup>E</sup>  | 26.88 ± 0.50 <sup>A</sup>   |
|         | 8 | 18.73 ± 0.96 <sup>A</sup>     | 15.39 ± 0.51 <sup>B</sup>   | 18.86 ± 0.06 <sup>A</sup>   | 16.48 ± 1.44 <sup>A,B</sup> | 0.25 ± 0.05 <sup>C</sup>  | 18.45 ± 0.51 <sup>A</sup>   |
| Σn6/Σn3 | 0 | 6.92 ± 0.89 <sup>B</sup>      | 5.18 ± 0.03 <sup>C</sup>    | 5.24 ± 0.22 <sup>C</sup>    | 4.92 ± 0.01 <sup>C</sup>    | 0.60 ± 0.04 <sup>D</sup>  | 48.29 ± 3.04 <sup>A</sup>   |
|         | 4 | 5.95 ± 1.08 <sup>B</sup>      | 6.12 ± 0.93 <sup>B</sup>    | 5.09 ± 0.03 <sup>C</sup>    | 4.94 ± 0.12 <sup>C</sup>    | 0.66 ± 0.02 <sup>D</sup>  | 50.57 ± 0.35 <sup>A</sup>   |
|         | 8 | 5.84 ± 0.98 <sup>C</sup>      | 7.06 ± 0.01 <sup>B</sup>    | 5.35 ± 0.05 <sup>C</sup>    | 5.23 ± 0.00 <sup>C</sup>    | 0.44 ± 0.13 <sup>D</sup>  | 41.22 ± 5.84 <sup>A</sup>   |
| TI      | 0 | 0.95 ± 0.05 <sup>B</sup>      | 0.88 ± 0.09 <sup>B,C</sup>  | 0.80 ± 0.02 <sup>C</sup>    | 0.97 ± 0.04 <sup>B</sup>    | 1.16 ± 0.02 <sup>A</sup>  | 0.91 ± 0.00 <sup>B</sup>    |
|         | 4 | 1.08 ± 0.06 <sup>B</sup>      | 1.09 ± 0.06 <sup>B</sup>    | 1.10 ± 0.08 <sup>B</sup>    | 1.13 ± 0.02 <sup>B</sup>    | 1.78 ± 0.01 <sup>A</sup>  | 1.13 ± 0.01 <sup>B</sup>    |
|         | 8 | 1.17 ± 0.09 <sup>D</sup>      | 1.34 ± 0.06 <sup>C</sup>    | 1.01 ± 0.02 <sup>D</sup>    | 1.17 ± 0.01 <sup>D</sup>    | 1.72 ± 0.02 <sup>B</sup>  | 1.99 ± 0.15 <sup>A</sup>    |
| AI      | 0 | 0.49 ± 0.01 <sup>B</sup>      | 0.54 ± 0.04 <sup>B</sup>    | 0.49 ± 0.01 <sup>B</sup>    | 0.55 ± 0.01 <sup>B</sup>    | 0.69 ± 0.04 <sup>A</sup>  | 0.44 ± 0.03 <sup>C</sup>    |
|         | 4 | 0.58 ± 0.01 <sup>B</sup>      | 0.57 ± 0.01 <sup>B</sup>    | 0.52 ± 0.02 <sup>B</sup>    | 0.60 ± 0.00 <sup>B</sup>    | 0.85 ± 0.00 <sup>A</sup>  | 0.49 ± 0.00 <sup>B</sup>    |
|         | 8 | 0.59 ± 0.02 <sup>CD</sup>     | 0.65 ± 0.03 <sup>C</sup>    | 0.54 ± 0.00 <sup>D</sup>    | 0.61 ± 0.02 <sup>C</sup>    | 0.90 ± 0.02 <sup>A</sup>  | 0.72 ± 0.09 <sup>B</sup>    |
| h/H     | 0 | 2.53 ± 0.01 <sup>B</sup>      | 2.37 ± 0.21 <sup>B,C</sup>  | 2.59 ± 0.02 <sup>B</sup>    | 2.21 ± 0.06 <sup>C</sup>    | 1.77 ± 0.08 <sup>C</sup>  | 2.93 ± 0.03 <sup>A</sup>    |
|         | 4 | 2.14 ± 0.02 <sup>B</sup>      | 2.11 ± 0.02 <sup>B</sup>    | 2.29 ± 0.10 <sup>B</sup>    | 1.99 ± 0.01 <sup>C</sup>    | 1.33 ± 0.01 <sup>D</sup>  | 2.50 ± 0.01 <sup>A</sup>    |
|         | 8 | 2.06 ± 0.10 <sup>B</sup>      | 1.89 ± 0.08 <sup>C</sup>    | 2.24 ± 0.03 <sup>A</sup>    | 1.91 ± 0.02 <sup>C</sup>    | 1.25 ± 0.02 <sup>D</sup>  | 1.63 ± 0.19 <sup>C</sup>    |
|         |   | Grilled Burger                |                             |                             |                             |                           |                             |
|         |   | G                             | GT                          | GE                          | GET                         | CT                        | CO                          |
| SFA     | 0 | 42.93 ± 0.69 <sup>A</sup>     | 40.86 ± 2.47 <sup>A</sup>   | 50.20 ± 1.25 <sup>A</sup>   | 48.88 ± 4.36 <sup>A</sup>   | 50.21 ± 1.06 <sup>A</sup> | 47.47 ± 10.32 <sup>A</sup>  |
|         | 4 | 43.81 ± 1.28 <sup>A,B,C</sup> | 41.06 ± 1.86 <sup>B,C</sup> | 38.56 ± 1.89 <sup>C</sup>   | 45.35 ± 0.83 <sup>A,B</sup> | 50.21 ± 1.67 <sup>A</sup> | 42.85 ± 1.84 <sup>B,C</sup> |
|         | 8 | 43.92 ± 0.71 <sup>A</sup>     | 40.86 ± 2.47 <sup>A</sup>   | 51.66 ± 0.81 <sup>A</sup>   | 47.48 ± 2.38 <sup>A</sup>   | 50.04 ± 0.84 <sup>A</sup> | 51.41 ± 15.90 <sup>A</sup>  |
| MUFA    | 0 | 34.06 ± 3.32 <sup>B,C</sup>   | 38.54 ± 0.57 <sup>A,B</sup> | 31.52 ± 2.71 <sup>B,C</sup> | 32.32 ± 0.27 <sup>B,C</sup> | 46.85 ± 1.32 <sup>A</sup> | 28.64 ± 2.58 <sup>C</sup>   |
|         | 4 | 34.94 ± 0.11 <sup>B</sup>     | 39.55 ± 0.90 <sup>B</sup>   | 37.00 ± 1.74 <sup>B</sup>   | 35.81 ± 1.53 <sup>B</sup>   | 47.95 ± 0.74 <sup>A</sup> | 40.66 ± 2.50 <sup>B</sup>   |
|         | 8 | 35.33 ± 1.50 <sup>B,C</sup>   | 38.34 ± 0.85 <sup>B</sup>   | 32.73 ± 0.99 <sup>C,D</sup> | 32.32 ± 0.27 <sup>C,D</sup> | 47.36 ± 0.60 <sup>A</sup> | 28.64 ± 2.58 <sup>D</sup>   |
| PUFA    | 0 | 20.55 ± 0.53 <sup>A</sup>     | 19.40 ± 0.36 <sup>A</sup>   | 19.86 ± 1.49 <sup>A</sup>   | 18.73 ± 4.20 <sup>A</sup>   | 2.76 ± 0.00 <sup>B</sup>  | 12.65 ± 3.00 <sup>A</sup>   |
|         | 4 | 21.25 ± 1.39 <sup>B</sup>     | 18.46 ± 0.36 <sup>B,C</sup> | 27.01 ± 0.00 <sup>A</sup>   | 17.89 ± 1.01 <sup>C</sup>   | 3.91 ± 0.03 <sup>D</sup>  | 18.27 ± 0.22 <sup>C</sup>   |
|         | 8 | 20.75 ± 0.79 <sup>A</sup>     | 19.40 ± 0.36 <sup>A</sup>   | 20.11 ± 1.14 <sup>A</sup>   | 20.20 ± 2.11 <sup>A</sup>   | 2.77 ± 0.00 <sup>C</sup>  | 12.65 ± 3.00 <sup>B</sup>   |
| CLA     | 0 | 0.21 ± 0.04 <sup>B</sup>      | 0.26 ± 0.02 <sup>A,B</sup>  | 0.26 ± 0.02 <sup>A,B</sup>  | 0.20 ± 0.01 <sup>B</sup>    | 0.33 ± 0.03 <sup>A</sup>  | 0.23 ± 0.04 <sup>A,B</sup>  |
|         | 4 | 0.25 ± 0.01 <sup>A</sup>      | 0.27 ± 0.03 <sup>A</sup>    | 0.30 ± 0.03 <sup>A</sup>    | 0.24 ± 0.01 <sup>A</sup>    | 0.32 ± 0.02 <sup>A</sup>  | 0.25 ± 0.04 <sup>A</sup>    |
|         | 8 | 0.21 ± 0.04 <sup>B</sup>      | 0.26 ± 0.02 <sup>A,B</sup>  | 0.25 ± 0.02 <sup>A,B</sup>  | 0.20 ± 0.01 <sup>B</sup>    | 0.33 ± 0.03 <sup>A</sup>  | 0.23 ± 0.04 <sup>A,B</sup>  |
| Σn3     | 0 | 3.56 ± 0.13 <sup>A</sup>      | 2.80 ± 0.61 <sup>A</sup>    | 3.28 ± 0.21 <sup>A</sup>    | 3.45 ± 0.37 <sup>A</sup>    | 0.46 ± 0.03 <sup>B</sup>  | 0.61 ± 0.27 <sup>B</sup>    |
|         | 4 | 3.40 ± 0.41 <sup>A,B</sup>    | 2.51 ± 0.01 <sup>B</sup>    | 4.26 ± 0.00 <sup>A</sup>    | 3.95 ± 0.53 <sup>A</sup>    | 0.52 ± 0.08 <sup>C</sup>  | 0.74 ± 0.03 <sup>C</sup>    |
|         | 8 | 3.03 ± 0.63 <sup>A</sup>      | 3.01 ± 0.32 <sup>A</sup>    | 3.28 ± 0.21 <sup>A</sup>    | 3.45 ± 0.37 <sup>A</sup>    | 0.46 ± 0.03 <sup>B</sup>  | 0.48 ± 0.09 <sup>B</sup>    |

Table 7. Cont.

|                       |   | Grilled Burger              |                             |                              |                            |                            | CO                          |
|-----------------------|---|-----------------------------|-----------------------------|------------------------------|----------------------------|----------------------------|-----------------------------|
|                       |   | G                           | GT                          | GE                           | GET                        | CT                         |                             |
| $\Sigma n6$           | 0 | 16.34 ± 0.49 <sup>A</sup>   | 15.96 ± 0.28 <sup>A</sup>   | 15.31 ± 0.38 <sup>A</sup>    | 14.89 ± 3.55 <sup>A</sup>  | 1.76 ± 0.24 <sup>B</sup>   | 11.59 ± 2.83 <sup>A</sup>   |
|                       | 4 | 19.28 ± 4.15 <sup>A,B</sup> | 15.29 ± 0.35 <sup>A,B</sup> | 22.05 ± 0.00 <sup>A</sup>    | 13.32 ± 0.52 <sup>B</sup>  | 2.49 ± 0.38 <sup>C</sup>   | 16.78 ± 0.10 <sup>A,B</sup> |
|                       | 8 | 17.07 ± 1.51 <sup>A</sup>   | 17.53 ± 2.51 <sup>A</sup>   | 16.02 ± 1.27 <sup>A</sup>    | 16.19 ± 1.71 <sup>A</sup>  | 1.59 ± 0.01 <sup>C</sup>   | 11.59 ± 2.83 <sup>B</sup>   |
| $\Sigma n6/\Sigma n3$ | 0 | 4.59 ± 0.03 <sup>C</sup>    | 6.86 ± 0.09 <sup>B</sup>    | 4.96 ± 0.03 <sup>B,C</sup>   | 4.61 ± 0.12 <sup>C</sup>   | 3.77 ± 0.27 <sup>C</sup>   | 24.08 ± 1.33 <sup>A</sup>   |
|                       | 4 | 5.48 ± 0.76 <sup>B,C</sup>  | 6.10 ± 0.11 <sup>B</sup>    | 5.18 ± 0.00 <sup>B,C,D</sup> | 3.39 ± 0.32 <sup>D</sup>   | 3.70 ± 0.20 <sup>C,D</sup> | 22.55 ± 0.88 <sup>A</sup>   |
|                       | 8 | 5.82 ± 1.71 <sup>B</sup>    | 5.90 ± 1.45 <sup>B</sup>    | 4.96 ± 0.02 <sup>B</sup>     | 4.64 ± 0.07 <sup>B</sup>   | 3.60 ± 0.02 <sup>B</sup>   | 24.08 ± 1.33 <sup>A</sup>   |
| TI                    | 0 | 1.19 ± 0.08 <sup>A</sup>    | 1.09 ± 0.11 <sup>A</sup>    | 1.38 ± 0.21 <sup>A</sup>     | 1.42 ± 0.29 <sup>A</sup>   | 1.90 ± 0.03 <sup>A</sup>   | 2.16 ± 0.33 <sup>A</sup>    |
|                       | 4 | 1.02 ± 0.26 <sup>B</sup>    | 1.15 ± 0.02 <sup>B</sup>    | 0.85 ± 0.00 <sup>B</sup>     | 1.18 ± 0.08 <sup>B</sup>   | 1.87 ± 0.14 <sup>A</sup>   | 1.37 ± 0.11 <sup>A,B</sup>  |
|                       | 8 | 1.19 ± 0.09 <sup>A</sup>    | 1.14 ± 0.03 <sup>A</sup>    | 1.60 ± 0.52 <sup>A</sup>     | 1.32 ± 0.15 <sup>A</sup>   | 1.87 ± 0.07 <sup>A</sup>   | 2.16 ± 0.33 <sup>A</sup>    |
| AI                    | 0 | 0.63 ± 0.01 <sup>A</sup>    | 0.58 ± 0.03 <sup>A</sup>    | 0.63 ± 0.02 <sup>A</sup>     | 0.70 ± 0.17 <sup>A</sup>   | 0.85 ± 0.01 <sup>A</sup>   | 0.94 ± 0.14 <sup>A</sup>    |
|                       | 4 | 0.54 ± 0.11 <sup>A,B</sup>  | 0.57 ± 0.04 <sup>A,B</sup>  | 0.50 ± 0.00 <sup>B</sup>     | 0.65 ± 0.09 <sup>A,B</sup> | 0.76 ± 0.03 <sup>A</sup>   | 0.57 ± 0.00 <sup>A,B</sup>  |
|                       | 8 | 0.62 ± 0.02 <sup>A</sup>    | 0.56 ± 0.05 <sup>A</sup>    | 0.69 ± 0.10 <sup>A</sup>     | 0.58 ± 0.05 <sup>A</sup>   | 0.84 ± 0.02 <sup>A</sup>   | 0.79 ± 0.35 <sup>A</sup>    |
| h/H                   | 0 | 1.93 ± 0.04 <sup>A</sup>    | 2.09 ± 0.12 <sup>A</sup>    | 1.91 ± 0.06 <sup>A</sup>     | 1.98 ± 0.11 <sup>A</sup>   | 1.32 ± 0.00 <sup>B</sup>   | 1.21 ± 0.20 <sup>B</sup>    |
|                       | 4 | 2.38 ± 0.35 <sup>A</sup>    | 2.17 ± 0.15 <sup>A,B</sup>  | 2.50 ± 0.00 <sup>A</sup>     | 1.82 ± 0.30 <sup>A,B</sup> | 1.42 ± 0.20 <sup>B</sup>   | 2.11 ± 0.01 <sup>A,B</sup>  |
|                       | 8 | 2.00 ± 0.05 <sup>A</sup>    | 2.17 ± 0.23 <sup>A</sup>    | 1.85 ± 0.15 <sup>A,B</sup>   | 1.98 ± 0.11 <sup>A</sup>   | 1.34 ± 0.02 <sup>B,C</sup> | 1.21 ± 0.20 <sup>C</sup>    |

<sup>A-E</sup> Mean values between variants on the same storage day with different letters indicate a significant difference. SFA—saturated fatty acid; MUFA—monounsaturated fatty acid; PUFA—polyunsaturated fatty acid; CLA—conjugated linoleic acid; AI—atherogenic index; TI—thrombogenicity index; h/H—hypcholesterolemic/hypercholesterolemic ratio; G—encapsulated oil; GT—encapsulated oil + tallow; GE—encapsulated oil with açai extract; GET—encapsulated oil with açai extract + tallow; CT—control with tallow; CO—control with oil.

## 2.2.7. Analysis Correlation Coefficients among Color Parameters ( $L^*$ , $a^*$ , $b^*$ , BI), Textural (Springiness, Chewiness, Cohesiveness, and Hardness), Cooking Loss, Weight Loss, Fatty Acid Profile (SFA, MUFA, and PUFA), WHC, pH, and TBARS in Raw and Grilled Burgers

The correlation analysis among fatty acid profiles (SFA, MUFA, and PUFA), color parameters ( $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ , and BI), WHC, pH, weight loss, and TBARS in raw burgers is presented in Table 8. The analysis showed a high negative correlation between PUFA and SFA and between PUFA and MUFA (−0.580 and −0.790,  $p < 0.05$ , respectively). These correlation are probably related to the change in the number of bonds in fatty acids associated with oxidation processes. In addition, the amount of SFA in the raw burger is negatively correlated with the color parameter  $a^*$  and BI; this may indicate an oxidative process during which the color of the fat changes. The analysis of the burger brightness parameter ( $L^*$ ) showed positive correlations with  $b^*$ , WHC, pH, TBARS (0.727, 0.539, 0.497, and 0.848,  $p < 0.05$ , respectively). Moreover, the correlation analysis showed high positive correlations of the parameter  $b^*$  with BI, WHC, pH, and the TBARS analyses (0.751, 0.928, 0.880, and 0.765,  $p < 0.05$ , respectively). The correlation analysis among fatty acid profiles (SFA, MUFA, and PUFA), color parameters ( $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ , and BI), WHC, pH, weight loss, and TBARS in raw burgers is presented in Table 8. The analysis showed a high negative correlation between PUFA and SFA and between PUFA and MUFA (−0.580 and −0.790,  $p < 0.05$ , respectively). This correlation is probably related to the change in the number of bonds in fatty acids associated with oxidation processes. In addition, the amount of SFA in the raw burger was negatively correlated with the color parameter  $a^*$  and BI; this may indicate an oxidative process during which the color of the fat changes. The analysis of the burger brightness parameter ( $L^*$ ) showed positive correlations with  $b^*$ , WHC, pH, and TBARS (0.727, 0.539, 0.497, and 0.848,  $p < 0.05$ , respectively). Moreover, the correlation analysis showed high positive correlations of the parameter  $b^*$  with BI, WHC, pH, and the TBARS analyses (0.751, 0.928, 0.880, and 0.765,  $p < 0.05$ , respectively).

**Table 8.** Analysis of correlations among fatty acid profile (SFA, MUFA, and PUFA), color parameters (L\*, a\*, b\*, and BI) and WHC, pH, weight and cooking loss, TBARS, and TPA parameters (springiness, chewiness, cohesiveness, and hardness) with raw and/or grilled burgers.

| Raw Burger     |     |        |          |             |           |              |          |              |          |             |          |          |
|----------------|-----|--------|----------|-------------|-----------|--------------|----------|--------------|----------|-------------|----------|----------|
|                | SFA | MUFA   | PUFA     | L*          | a*        | b*           | BI       | WHC          | pH       | Weight Loss | TBARS    |          |
| SFA            | 1   | −0.040 | −0.580 * | 0.345       | −0.523 *  | −0.116       | −0.474 * | −0.292       | −0.108   | 0.677 *     | 0.445    |          |
| MUFA           |     | 1      | −0.790 * | −0.230      | 0.396     | −0.282       | −0.027   | −0.309       | −0.201   | −0.311      | −0.319   |          |
| PUFA           |     |        | 1        | −0.020      | −0.001    | 0.307        | 0.318    | 0.438        | 0.236    | −0.162      | −0.006   |          |
| L*             |     |        |          | 1           | −0.343    | 0.727 *      | 0.112    | 0.539 *      | 0.497 *  | 0.008       | 0.848 *  |          |
| a*             |     |        |          |             | 1         | 0.277        | 0.809 *  | 0.345        | 0.381    | −0.750 *    | −0.226   |          |
| b*             |     |        |          |             |           | 1            | 0.751 *  | 0.928 *      | 0.880 *  | −0.473 *    | 0.765 *  |          |
| BI             |     |        |          |             |           |              | 1        | 0.810 *      | 0.797 *  | −0.764 *    | 0.281    |          |
| WHC            |     |        |          |             |           |              |          | 1            | 0.925 *  | −0.588 *    | 0.654 *  |          |
| pH             |     |        |          |             |           |              |          |              | 1        | −0.487 *    | 0.698 *  |          |
| Weight loss    |     |        |          |             |           |              |          |              |          | 1           | 0.072    |          |
| TBARS          |     |        |          |             |           |              |          |              |          |             | 1        |          |
| Grilled burger |     |        |          |             |           |              |          |              |          |             |          |          |
|                | SFA | MUFA   | PUFA     | Springiness | Chewiness | Cohesiveness | Hardness | Cooking loss | L*       | a*          | b*       | BI       |
| SFA            | 1   | −0.040 | −0.611 * | 0.401       | 0.435     | 0.416        | 0.440    | 0.395        | −0.546 * | 0.035       | −0.492 * | −0.345   |
| MUFA           |     | 1      | −0.612 * | 0.129       | 0.285     | 0.391        | 0.210    | 0.306        | 0.506 *  | −0.004      | −0.384   | −0.565 * |
| PUFA           |     |        | 1        | −0.408      | −0.657 *  | −0.765 *     | −0.594 * | −0.739 *     | 0.133    | −0.125      | 0.790 *  | 0.782 *  |
| Springiness    |     |        |          | 1           | 0.139     | 0.437        | 0.031    | 0.176        | −0.026   | −0.007      | −0.329   | −0.367   |
| Chewiness      |     |        |          |             | 1         | 0.850 *      | 0.985 *  | 0.891 *      | −0.428   | 0.185       | −0.905 * | −0.811 * |
| Cohesiveness   |     |        |          |             |           | 1            | 0.759 *  | 0.901 *      | −0.268   | 0.060       | −0.936 * | −0.937 * |
| Hardness       |     |        |          |             |           |              | 1        | 0.845 *      | −0.492 * | 0.220       | −0.848 * | −0.716 * |
| Cooking loss   |     |        |          |             |           |              |          | 1            | −0.433   | 0.181       | −0.920 * | −0.830 * |
| L*             |     |        |          |             |           |              |          |              | 1        | −0.267      | 0.382    | 0.024    |
| a*             |     |        |          |             |           |              |          |              |          | 1           | −0.302   | 0.076    |
| b*             |     |        |          |             |           |              |          |              |          |             | 1        | 0.887 *  |
| BI             |     |        |          |             |           |              |          |              |          |             |          | 1        |

\*  $p < 0.05$ .

### 3. Materials and Methods

#### 3.1. Preliminary Studies

Preliminary studies were conducted to verify the maximum amount of oil absorbed by the base hydrogel without affecting the gel structure. The base for gel formulation consisted of konjac flour (green essence) and sodium alginate (Agnex 1999). Preparation of the gel with encapsulated safflower oil (gold press) was conducted in a multistep process. Gelation involved dissolving 2% sodium alginate and konjac flour in H<sub>2</sub>O at 60 °C with constant stirring until a clear emulsion was obtained. An emulsion was obtained of the mixture of safflower oil and water at a ratio of 2:1. Next, homogenization of the emulsion in base gel was performed using an immersion homogenizer (IKA T18 digital, Ultra Turrax, Germany). The concentrations of encapsulated oil in the emulsion hydrogels were 0% (control), 29%, 33%, 38%, 42%, 45%, and 48%. The biocomposites obtained through this approach were used for further studies: SEM image analysis, FT-IR spectroscopy analysis, texture, and rheology analysis, from which the optimal hydrogel was selected for further analysis and application (see Results and Discussion section).

#### 3.2. Beef Burgers Formation and Packaging

The beef (neck muscles, Zakłady Mięsne Wierzejki, Poland) without excess fat and connective tissue was minced. Then, the beef and beef fat (tallow) were ground separately using a meat grinder with an 8 mm hole diameter plate (PI-22-TU-T, Edesa, Greece). Table 9 shows the composition of the prepared burgers with encapsulated oil without/with addition of açai extract (superfoods, PL-EKO-07) in hydrogel and defatted flaxseed flour (LenVitol, Oleofarm, Wrocław, Poland) (variants G, GT, GE, and GET). An emulsion hydrogel containing 45% encapsulated oil was prepared according to the recipe presented in the preliminary studies. The control variant was a burger with tallow (CT) as the conventional source of fat in meat products and oil (CO) as an alternative source of fat. All ingredients, according to the specified proportions, were mixed and burgers (120 g ± 1) of 10 cm diameter were formed. Then, the burgers were placed on 137 × 187 × 50 mm trays made from polyethylene terephthalate (PET) with an absorbent pad (absorbency 1700 mL/m<sup>2</sup>). The trays were then sealed with 35 µm thick PSF films (PSF35ZAC, PolTechPack, Olstzn, Poland). Burgers were packed in modified atmosphere (80% O<sub>2</sub> and 20% CO<sub>2</sub>) and stored for 0, 4, and 8 days at a temperature of 4 ± 1 °C. Color, pH, fatty acid profile, thiobarbituric acid reactive substances (TBARS), weight loss, water-holding capacity (WHC), and volatile compounds profile analyses were performed on the raw burgers. After the specified storage time (0, 4, and 8 days), the burgers were grilled on an electric grill (silex), heated to 190 °C (bottom plate) and 210 °C (top plate) until 75 °C at the geometric center of each burger (measured with a thermocouple), and then cooled to 25 °C. The prepared burgers were used for the following analyses: color, fatty acid profile, cooking loss, volatile compounds and texture profile analysis (TPA) test. The experimental set-up covered 3 biological replicates (162 samples).

**Table 9.** Beef burger composition.

| Variant | Component                                                                |                   |          |          |
|---------|--------------------------------------------------------------------------|-------------------|----------|----------|
|         | Type of Fat Added                                                        | Linseed Flour (g) | Meat (g) | Salt (g) |
| G       | 9.5 g Hydrogel with encapsulated oil                                     | 10.5              | 100      | 1.7      |
| GT      | 9.5 g Hydrogel with encapsulated oil + 5 g beef tallow                   | 10.5              | 95       | 1.7      |
| GE      | 9.5 g Hydrogel with encapsulated oil with açai extract                   | 10.5              | 100      | 1.7      |
| GET     | 9.5 g Hydrogel with encapsulated oil with açai extract + 5 g beef tallow | 10.5              | 95       | 1.7      |
| CT      | 20 g Beef tallow                                                         | ~                 | 100      | 1.7      |
| CO      | 8 g Oil                                                                  | ~                 | 112      | 1.7      |

G—encapsulated oil; GT—encapsulated oil + tallow; GE—encapsulated oil with açai extract; GET—encapsulated oil with açai extract + tallow; CT—control with tallow; CO—control with oil.

### 3.3. Rheology Analysis

Melt flow curves were measured using a MARS III rheometer (MTMC—MARS Temperature Module) in CR mode with a coaxial cylinder measuring system (CC25 DIN Ti) with a 5.3 mm gap, wherein the measurements were determined at 5 °C. The shear rate was increased from 0 to 80 s<sup>−1</sup>, for 5 min, and then decreased from 80 to 0 s<sup>−1</sup>, for 5 min. The Ostwald–de Waele rheological analysis (Steffe 1996) was used to describe the melt flow curves. Thixotropy and hysteresis loop areas were calculated according to the method described by Sikora et al. [48].

### 3.4. Analysis of the Textural Parameters of Hydrogel Emulsion

Analysis of the hydrogel emulsion and burger texture textural parameters of the hydrogel were analyzed using a texture analyzer (TA.XTplusC Texture Analyzer) by penetration using Perspex 45° TTC Spreadability Rig Cone Sensors (Stable Micro System, Ltd., Goldaming, UK), according to method described by Ögütçü and Yilmaz [12] with some modifications. Initially, the temperature of the sample was maintained at 5 °C for 24 h, then, penetration was carried out to a depth of 23 mm, at a speed of 3 mm/s. From the data obtained, the following parameters were determined using exponent connect software: firmness (N), lubricity (N × s), viscosity (Pa s) and stickiness (N × s).

The texture profile analysis (TPA) of the grilled beef burgers after 0, 4, and 8 days of storage at 4 ± 1 °C was conducted in a double compression cycle using an Instron 5965 universal testing machine (Instron, USA) with a 500 (N) load cell connected to the Bluehill<sup>®</sup>2 software, following the methodology described by Afshari et al. [13]. Samples of 2.45 cm in diameter and 2.50 cm height, cut out from the center of the burger, were subjected to double compression with 3 s relaxation time until their initial height was reduced by 50%. The analysis was performed at a constant head travel speed of 200 mm·min<sup>−1</sup>, at a temperature of 4 ± 1 °C. Six measurements were made for each group. Texture parameters, such as cohesiveness (–) (the ratio of the area under the curve from the second compression to the area under the curve from the first compression), hardness (N) (the maximum force of the first compression), elasticity (–), and chewiness (N) (hardness × cohesiveness × elasticity) were calculated using methodology described by Póttorak et al. [49].

### 3.5. Scanning Electron Microscope (SEM) Analysis

The morphology of the prepared oil-encapsulated gels was examined using a JEOL JSM-7500F high-resolution scanning electron microscope.

### 3.6. Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FT-IR) Analysis

The FT-IR spectra of the biocomposites were recorded in the range of 4000–700 cm<sup>−1</sup> using a MATTSON 3000 FT-IR spectrophotometer (Madison, Wisconsin, USA). The instrument was equipped with a 30SPEC 30 Degree Reflectance adapter and a MIRacle ATR



accessory (PIKE Technologies Inc., Madison, WI, USA). The FT-IR spectra were performed on dried gels (films were obtained).

### 3.7. Water-Holding Capacity (WHC) Analysis

The WHC of raw burgers after 0, 4 and 8 days of storage was analyzed according to the method reported by Grau and Hamm [50]. Three hundred milligrams of the sample was placed on Whatman No. 1 filter paper between two glass plates under a weight of 2000 g for 5 min. In order to take press stain images, a Kaiser system (Germany) equipped with the OImaging MicroPublisher 5.0 RTV software (Canada) was used. Meat and fluid areas were evaluated using the Image-Pro Plus software (v.7.0). The WHC values were calculated using the following formula:

$$\text{WHC}\% = (\text{Am})/\text{Ap} \times 100 \quad (1)$$

Am—meat areas; Ap—fluid areas.

### 3.8. Color and pH Analysis

The color evaluation was performed on raw and grilled burgers after 0, 4, and 8 days of storage. Measurements were obtained at 5 different locations on the burgers' surfaces. The analysis was performed in a CIE L\*a\*b\* system using a Minolta CR-400 chromameter with a CA-A98 attachment (Konica Minolta Inc., Tokyo, Japan) and D65 illuminant. The browning index (BI) was calculated using L\*, a\*, and b\* values according to the following formula [51]:

$$\text{BI} = 100 (x - 0.31)/0.17 \quad (2)$$

where  $x = (a^* + 1.75 L^*)/(5.645 L^* + a^* - 3.012 b^*)$ .

The pH was measured using a digital pH meter (FiveEasy F20, Mettler Toledo, Warsaw, Poland).

### 3.9. Weight Loss and Cooking Loss during Storage Analysis

The technological properties of the tested burgers were determined in 3 biological replicates using 2 samples for each variant. Raw burgers were weighed on Day 0 and after each day of storage to determine mass loss during storage. Samples were also weighed after grilling and cooling the burgers to room temperature (25 °C). Mass loss after both storage (F) and grilling (G) were calculated according to the following equations:

$$\text{weight loss}\% = (\text{BR0} - \text{BRx})/\text{BR0} \times 100 \quad (3)$$

$$\text{cooking loss}\% = (\text{BRx} - \text{BGx})/\text{BRx} \times 100 \quad (4)$$

BR0—raw burger weight on day 0; BRx—raw burger weight after each day of storage; BGx—grilled burger weight after each day of storage

### 3.10. Analysis of Total Phenolic Content (TPC) and Antioxidant Activity of the 2,2-Azinobis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic Acid (ABTS) and Ferric Reducing Antioxidant Power (FRAP)

#### 3.10.1. Extraction Process

Safflower oil extraction for the analysis of TPC and antioxidant activity was prepared according to the procedure described by Ablay et al. [52]. Briefly, 5 g of oil was shaken in 5 mL of n-hexane for 5 min. Then, 5 mL of MeOH/H<sub>2</sub>O (80:20, v/v) was added, centrifuged, and the resulting extract was stored at 4 °C. TPC and antioxidant activity of the açai extract (superfoods, PL-EKO-07) was analyzed after extraction according to the study reported by Hanula et al. [8] with minor modifications. First, 1 g of lyophilized extract was shaken in 25 mL of H<sub>2</sub>O for 1 h. Then, the extraction process was carried out using ultrasound for 5 min. The obtained extract was centrifuged and stored at 4 °C for further analysis.

### 3.10.2. TPC Analysis

The TPC analysis of the studied oil and açai extract was carried out using the method described by Singleton and Rossi [53] with some modifications. First, 0.1 mL of extract, 0.5 mL of Folin–Ciocalteu, 2.9 mL of H<sub>2</sub>O, and 1.5 mL of 7% Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> were mixed and incubated for 40 min in the dark. The absorbance was measured at 765 nm using a UV-Vis spectrophotometer. The obtained results were expressed as mg gallic acid/g sample.

### 3.10.3. ABTS and FRAP Analyses

The ABTS and FRAP analyses were performed according to the methods described by Belwal et al. [54] with slight modifications. The ABTS analysis was conducted mixing 0.1 mL of extract with 2.9 mL of ABTS and incubation for 30 min. The FRAP analysis was based on mixing 2.9 mL of FRAP solution (20 mM ferric chloride in H<sub>2</sub>O, 10 mM 2,4,6-tri(2-pyridyl)-s-triazine in 40 mM hydrochloric acid, and 300 mM sodium acetate buffer at a 1:1:10 ratio) with 0.1 mL of the extract and further incubation in the dark for 15 min. The ABTS and FRAP concentrations were measured at 520 nm and 593 nm, respectively, using a UV-Vis spectrophotometer. The results were expressed as mg ascorbic acid/g sample.

### 3.11. Thiobarbituric Acid Reactive Substances (TBARS) Analysis

The analysis of lipid oxidation was evaluated by TBARS changes and was performed according to the procedure described by Brodowska et al. [55]. 1,1,3,3-Tetramethoxypropane was used to prepare the standard curve. The absorbance of the resulting color complex was measured using a UV-Vis spectrophotometer (UV-1800, Shimadzu Corp., 115 VAC, Tokyo, Japan). The TBARS values were calculated in mg of malondialdehyde (MDA) per 100 g sample.

### 3.12. Fatty Acid Profile Analysis, Thrombogenicity Index (TI), Atherogenic Index (AI), and Hypocholesterolemic/Hypercholesterolemic (h/H) Ratio Analysis

The fatty acid profile analysis was performed for safflower oil in each burger variant (raw and grilled) after 0, 4, and 8 days of storage. Lipids were directly methylated as described by Wojtasik-Kalinowska et al. [56] and Heck et al. [3] with slight modifications. The fatty acid methyl ester composition was analyzed using gas chromatography (Shimadzu GC-2010) with a flame ionization detector (FID) equipped with a Zebron ZB-FAME column (GC Cap. Column, 60 mL × 0.25 mm ID × 0.2 µm df). The initial column temperature was 100 °C held for 3 min, which was increased to 240 °C at a rate of 2.5 °C/min, and held for 10 min. The detector was maintained at 260 °C. In order to identify the FAME composition in burgers or oils, FAME Mix-37 standard (Supelco, TraceCERT<sup>®</sup>, EC:200-838-9, SKU: CRM47885) was used. The obtained results were presented as a fatty acid profile. In addition, TI and AI were determined according to the method described by Ulbricht and Southgate [57] and the hypocholesterolemic/hypercholesterolemic (h/H) ratio was calculated according to Fernandez et al. [58] as follows:

$$TI = (C14:0 + C16:0 + 18:0) / ((0.5 \times \Sigma MUFA) + (0.5 \times \Sigma n - 6) + (3 \times \Sigma n - 3) + ((\Sigma n - 3) / (\Sigma n - 6))) \quad (5)$$

$$AI = (C12:0 + (4 \times C14:0) + 16:0) / ((\Sigma PUFA n - 3) + (\Sigma PUFA n - 6) + (\Sigma MUFA)) \quad (6)$$

$$h/H = (C18:1n9 + \Sigma PUFA) / (C14:0 + C16:0) \quad (7)$$

### 3.13. Analysis of the Volatile Compounds Profile

The analysis of the volatile compounds profile was performed using a Heracles II e-nose (Alpha MOS Co., Toulouse, France) based on ultrafast gas chromatograph with a flame ionization detector and a retention index counting application using the AroChemBase library (AlphaSoft software, Alpha MOS Co., Toulouse, France). The gas chromatograph was equipped with two capillary columns of different polarities, i.e., DB-5 and DB-1701, with 10 m × 0.18 mm ID × 0.4 µm film thickness. The analysis was conducted according to the methodology reported by Górska-Horczyzak et al. [59]. Calibration was performed on a standard mixture of C6–C16 alkanes (Restek, ANCHEM Plus, Warsaw, Poland).

### 3.14. Statistical Analysis

The results were analyzed using the Statistica software version 13.3 (StatSoft, Tulsa, OK, USA). The normality of data distribution was verified using the Shapiro–Wilk test. Factorial analysis of variance (ANOVA) was performed in the case of the TBARS analysis. The results of hydrogel texture and rheology as well as color of meat were analyzed with one-way ANOVA. Texture parameters of the burgers were subjected to the Kruskal–Wallis ANOVA, followed by multiple comparisons of mean ranks. Moreover, the strengths of the relationships among fatty acid profile (SFA, MUFA, and PUFA), texture parameters (springiness, chewiness, cohesiveness, and hardness), cooking loss, weight loss, WHC, pH, and color parameters ( $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ , and BI) methods were determined using Pearson's correlation coefficients. For all analyses, 95% confidence intervals were established. The AlfaSoft package with statistical quality control was used in order to perform a comparative analysis and to evaluate the chromatographic fingerprints of the volatile compounds.

## 4. Conclusions

In conclusion, an emulsion hydrogel formulated based on konjac flour and sodium alginate with encapsulated oil was used as a functional ingredient in beef burgers enriched with flaxseed flour to develop a healthier alternative. Each variant of the fat substitute containing extract contributed to a reduction in the changes of volatile compounds profile rate and preserved  $a^*$  color parameter. In addition, the fat substitute reduced the hardness and chewiness parameters of the grilled burgers. According to the obtained results, the applied fat substitute promoted a reduction in the nutritional AI and TI indexes, as well as increased the amount of the PUFAs and h/H ratio. Thus, a hydrogel emulsion enriched with encapsulated oil and açai extract along with the addition of flaxseed flour in a burger recipe instead of beef fat results in a healthier alternative that is rich in fiber.

**Author Contributions:** M.H., conceptualization, formal analysis, investigation, methodology, supervision, writing—original draft, visualization, writing—review and editing; A.S., formal analysis, investigation, methodology; E.G.-H., formal analysis, methodology; G.K., formal analysis, methodology; G.P., formal analysis; E.P.-N., formal analysis, investigation, methodology, supervision, writing—review and editing; A.P.; funding acquisition, supervision, writing—review and editing. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

**Funding:** The research reported in this manuscript has been financed by the Polish Ministry of Science and Higher Education within the fund from the Institute of Human Nutrition Sciences, Warsaw, University of Life Sciences (WULS), for scientific research.

**Institutional Review Board Statement:** Not applicable.

**Informed Consent Statement:** Not applicable.

**Data Availability Statement:** Available from the authors.

**Conflicts of Interest:** The authors declare no conflict of interest. The funders had no role in the design of the study; in the collection, analyses, or interpretation of data; in the writing of the manuscript, or in the decision to publish the results.

**Sample Availability:** Samples of the compounds are available from the authors.

## References

1. Domínguez, R.; Munekata, P.E.; Pateiro, M.; López-Fernández, O.; Lorenzo, J.M. Immobilization of oils using hydrogels as strategy to replace animal fats and improve the healthiness of meat products. *Curr. Opin. Food Sci.* **2021**, *37*, 135–144. [CrossRef]
2. Bahmanyar, F.; Hosseini, S.M.; Mirmoghtadaie, L.; Shojaee-Aliabadi, S. Effects of replacing soy protein and bread crumb with quinoa and buckwheat flour in functional beef burger formulation. *Meat Sci.* **2020**, *172*, 108305. [CrossRef] [PubMed]
3. Heck, R.T.; Vendruscolo, R.G.; Etchepare, M.D.A.; Cichoski, A.J.; de Menezes, C.R.; Barin, J.S.; Lorenzo, J.M.; Wagner, R.; Campagnol, P.C.B. Is it possible to produce a low-fat burger with a healthy  $n - 6/n - 3$  PUFA ratio without affecting the technological and sensory properties? *Meat Sci.* **2017**, *130*, 16–25. [CrossRef] [PubMed]



4. Jiménez-Colmenero, F.; Triki, M.; Herrero, A.M.; Rodríguez-Salas, L.; Ruiz-Capillas, C. Healthy oil combination stabilized in a konjac matrix as pork fat replacement in low-fat, PUFA-enriched, dry fermented sausages. *LWT Food Sci. Technol.* **2013**, *51*, 158–163. [\[CrossRef\]](#)
5. Lorenzo, J.M.; Munekata, P.E.S.; Pateiro, M.; Campagnol, P.C.B.; Domínguez, R. Healthy Spanish salchichón enriched with encapsulated n – 3 long chain fatty acids in konjac glucomannan matrix. *Food Res. Int.* **2016**, *89*, 289–295. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
6. Delgado-Pando, G.; Cofrades, S.; Ruiz-Capillas, C.; Triki, M.; Jiménez-Colmenero, F. Enriched n–3 PUFA/konjac gel low-fat pork liver pâté: Lipid oxidation, microbiological properties and biogenic amine formation during chilling storage. *Meat Sci.* **2012**, *92*, 762–767. [\[CrossRef\]](#)
7. Melo, P.S.; Arrivetti, L.D.O.R.; de Alencar, S.M.; Skibsted, L.H. Antioxidative and prooxidative effects in food lipids and synergism with  $\alpha$ -tocopherol of açai seed extracts and grape rachis extracts. *Food Chem.* **2016**, *213*, 440–449. [\[CrossRef\]](#)
8. Hanula, M.; Wyrwiz, J.; Moczowska, M.; Horbańczuk, O.K.; Pogorzelska-Nowicka, E.; Wierzbicka, A. Optimization of Microwave and Ultrasound Extraction Methods of Açai Berries in Terms of Highest Content of Phenolic Compounds and Antioxidant Activity. *Appl. Sci.* **2020**, *10*, 8325. [\[CrossRef\]](#)
9. Hautrive, T.P.; Piccolo, J.; Rodrigues, A.S.; Campagnol, P.C.B.; Kubota, E.H. Effect of fat replacement by chitosan and golden flaxseed flour (wholemeal and defatted) on the quality of hamburgers. *LWT Food Sci. Technol.* **2019**, *102*, 403–410. [\[CrossRef\]](#)
10. Karakurt, G.; Özkaya, B.; Saka, I. Chemical composition and quality characteristics of cookies enriched with microfluidized flaxseed flour. *LWT Food Sci. Technol.* **2022**, *154*, 112773. [\[CrossRef\]](#)
11. Zetzl, A.K.; Marangoni, A.G. Structured Emulsions and Edible Oleogels as Solutions to Trans Fat. *Trans Fats Repl. Solut.* **2014**, *215–243*. [\[CrossRef\]](#)
12. Frolova, Y.; Sobolev, R.; Kochetkova, A. Influence of oil combinations on the structural properties of oleogels. *E3S Web Conf.* **2021**, *285*, 05009. [\[CrossRef\]](#)
13. Cano, Y.; García-Zapateiro, L.A.; Zárate, Y. Emulsiones alimentarias del tipo aceite en agua preparadas con harina con alto contenido proteico a partir de cabezas de camarón (*Penaeus vannamei*). *Ing. Investig.* **2017**, *37*, 17–22. [\[CrossRef\]](#)
14. Hourant, P.; Baetan, V.; Morales, M.T.; Meurens, M.; Aparicio, R. Oil and Fat Classification by Selected Bands of Near-infrared Spectroscopy. *Appl. Spectrosc.* **2000**, *54*, 1168–1174. [\[CrossRef\]](#)
15. Rohman, A.; Man, Y.B.C.; Yusof, F.M. The Use of FTIR Spectroscopy and Chemometrics for Rapid Authentication of Extra Virgin Olive Oil. *J. Am. Oil Chem. Soc.* **2014**, *91*, 207–213. [\[CrossRef\]](#)
16. Si, H.; Cheong, L.-Z.; Huang, J.; Wang, X.; Zhang, H. Physical Properties of Soybean Oleogels and Oil Migration Evaluation in Model Praline System. *J. Am. Oil Chem. Soc.* **2016**, *93*, 1075–1084. [\[CrossRef\]](#)
17. Mokhtar, S.M.; Eldeeb, G.S.S. Impact of Mango Peel Extract on the Physicochemical Properties, Microbiological Stability and Sensory Characteristics of Beef Burgers During Cold Storage. *Egypt. J. Food Sci.* **2020**, *48*, 245–258. [\[CrossRef\]](#)
18. Nimrouzi, M.; Ruyvaran, M.; Zamani, A.; Nasiri, K.; Akbari, A. Oil and extract of safflower seed improve fructose induced metabolic syndrome through modulating the homeostasis of trace elements, TNF- $\alpha$  and fatty acids metabolism. *J. Ethnopharmacol.* **2020**, *254*, 112721. [\[CrossRef\]](#)
19. Rutkowska, J.; Antoniewska, A.; Baranowski, D.; Rasińska, E. Analiza profilu kwasów tłuszczowych wybranych olejów “nietypowych”. *Bromat. Chem. Toksykol.* **2016**, *3*, 385–389.
20. Goyal, A.; Sharma, V.; Upadhyay, N.; Gill, S.; Sihag, M. Flax and flaxseed oil: An ancient medicine & modern functional food. *J. Food Sci. Technol.* **2014**, *51*, 1633–1653. [\[CrossRef\]](#)
21. Alejandre, M.; Astiasarán, I.; Ansorena, D.; Barbut, S. Using canola oil hydrogels and organogels to reduce saturated animal fat in meat batters. *Food Res. Int.* **2019**, *122*, 129–136. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
22. Jin, S.; Hwang, J.; Hur, S.J.; Kim, G. Quality changes in fat-reduced sausages by partial replacing sodium chloride with other chloride salts during five weeks of refrigeration. *LWT Food Sci. Technol.* **2018**, *97*, 818–824. [\[CrossRef\]](#)
23. Rather, S.A.; Masoodi, F.A.; Akhter, R.; Gani, A.; Wani, S.M.; Malik, A.H. Effects of guar gum as fat replacer on some quality parameters of mutton goshtaba, a traditional Indian meat product. *Small Rumin. Res.* **2016**, *137*, 169–176. [\[CrossRef\]](#)
24. Sánchez-Zapata, E.; Muñoz, C.M.; Fuentes, E.; Fernández-López, J.; Sendra, E.; Sayas, E.; Navarro, C.; Pérez-Álvarez, J.A. Effect of tiger nut fibre on quality characteristics of pork burger. *Meat Sci.* **2010**, *85*, 70–76. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
25. Ghaderi-Ghahfarokhi, M.; Barzegar, M.; Sahari, M.A.; Azizi, M.H. Nanoencapsulation Approach to Improve Antimicrobial and Antioxidant Activity of Thyme Essential Oil in Beef Burgers During Refrigerated Storage. *Food Bioprocess Technol.* **2016**, *9*, 1187–1201. [\[CrossRef\]](#)
26. de Carvalho, F.A.L.; Lorenzo, J.M.; Pateiro, M.; Bermúdez, R.; Purriños, L.; Trindade, M. Effect of guarana (*Paullinia cupana*) seed and pitanga (*Eugenia uniflora* L.) leaf extracts on lamb burgers with fat replacement by chia oil emulsion during shelf life storage at 2 °C. *Food Res. Int.* **2019**, *125*, 108554. [\[CrossRef\]](#)
27. Summo, C.; De Angelis, D.; Difonzo, G.; Caponio, F.; Pasqualone, A. Effectiveness of Oat-Hull-Based Ingredient as Fat Replacer to Produce Low Fat Burger with High Beta-Glucans Content. *Foods* **2020**, *9*, 1057. [\[CrossRef\]](#)
28. Gök, V.; Akkaya, L.; Obuz, E.; Bulut, S. Effect of ground poppy seed as a fat replacer on meat burgers. *Meat Sci.* **2011**, *89*, 400–404. [\[CrossRef\]](#)
29. Lucas González, R.; Roldán-Verdu, A.; Sayas-Barberá, E.; Fernández-López, J.; Pérez-Álvarez, J.A.; Viuda-Martos, M. Assessment of emulsion gels formulated with chestnut (*Castanea sativa* M.) flour and chia (*Salvia hispanica* L.) oil as partial fat replacers in pork burger formulation. *J. Sci. Food Agric.* **2019**, *100*, 1265–1273. [\[CrossRef\]](#)



30. Afshari, R.; Hosseini, H.; Khaneghah, A.M.; Khaksar, R. Physico-chemical properties of functional low-fat beef burgers: Fatty acid profile modification. *LWT* **2017**, *78*, 325–331. [CrossRef]
31. Moghtadaei, M.; Soltanizadeh, N.; Goli, S.A.H.; Sharifimehr, S. Physicochemical properties of beef burger after partial incorporation of ethylcellulose oleogel instead of animal fat. *J. Food Sci. Technol.* **2021**, *58*, 4775–4784. [CrossRef] [PubMed]
32. Vargas-Ramella, M.; Munekata, P.E.S.; Pateiro, M.; Franco, D.; Campagnol, P.C.B.; Tomasevic, I.; Dominguez, R.; Lorenzo, J.M. Physicochemical Composition and Nutritional Properties of Deer Burger Enhanced with Healthier Oils. *Foods* **2020**, *9*, 571. [CrossRef] [PubMed]
33. Gómez-Estaca, J.; Pintado, T.; Jiménez-Colmenero, F.; Cofrades, S. The effect of household storage and cooking practices on quality attributes of pork burgers formulated with PUFA- and curcumin-loaded oleogels as healthy fat substitutes. *LWT* **2020**, *119*, 108909. [CrossRef]
34. Youssef, M.K.; Barbut, S. Effects of protein level and fat/oil on emulsion stability, texture, microstructure and color of meat batters. *Meat Sci.* **2009**, *82*, 228–233. [CrossRef] [PubMed]
35. Moghtadaei, M.; Soltanizadeh, N.; Goli, S.A.H. Production of sesame oil oleogels based on beeswax and application as partial substitutes of animal fat in beef burger. *Food Res. Int.* **2018**, *108*, 368–377. [CrossRef]
36. Ganhão, R.; Morcuende, D.; Estévez, M. Protein oxidation in emulsified cooked burger patties with added fruit extracts: Influence on colour and texture deterioration during chill storage. *Meat Sci.* **2010**, *83*, 402–409. [CrossRef]
37. Patinho, I.; Selani, M.M.; Saldaña, E.; Bortoluzzi, A.C.T.; Rios-Mera, J.D.; da Silva, C.M.; Kushida, M.M.; Contreras-Castillo, C.J. Agaricus bisporus mushroom as partial fat replacer improves the sensory quality maintaining the instrumental characteristics of beef burger. *Meat Sci.* **2020**, *172*, 108307. [CrossRef]
38. Zinina, O.; Merenkova, S.; Galimov, D.; Okuskhanova, E.; Rebezov, M.; Khayrullin, M.; Anichkina, O. Effects of Microbial Transglutaminase on Technological, Rheological, and Microstructural Indicators of Minced Meat with the Addition of Plant Raw Materials. *Int. J. Food Sci.* **2020**, *2020*, 1–11. [CrossRef]
39. Sharefiabadi, E.; Nacak, B.; Serdaroglu, M. Use of linseed and coconut flours in chicken patties as gluten free extenders. *IOP Conf. Ser. Earth Environ. Sci.* **2021**, *854*, 012086. [CrossRef]
40. Al-Mrazeeq, K.M.; Al-Abdullah, B.M.; Al-Ismael, K.M. Evaluation of some sensory properties and cooking loss of different burger formulations. *Ital. J. Food Sci.* **2010**, *22*, 134–142.
41. Salcedo-Sandoval, L.; Cofrades, S.; Ruiz-Capillas, C.; Jiménez-Colmenero, F. Effect of cooking method on the fatty acid content of reduced-fat and PUFA-enriched pork patties formulated with a konjac-based oil bulking system. *Meat Sci.* **2014**, *98*, 795–803. [CrossRef] [PubMed]
42. Heck, R.T.; Fagundes, M.B.; Cichoski, A.J.; de Menezes, C.R.; Barin, J.S.; Lorenzo, J.M.; Wagner, R.; Campagnol, P.C.B. Volatile compounds and sensory profile of burgers with 50% fat replacement by microparticles of chia oil enriched with rosemary. *Meat Sci.* **2019**, *148*, 164–170. [CrossRef] [PubMed]
43. Watanabe, A.; Kamada, G.; Imanari, M.; Shiba, N.; Yonai, M.; Muramoto, T. Effect of aging on volatile compounds in cooked beef. *Meat Sci.* **2015**, *107*, 12–19. [CrossRef] [PubMed]
44. Gardner, K.; Legako, J.F. Volatile flavor compounds vary by beef product type and degree of doneness. *J. Anim. Sci.* **2018**, *96*, 4238–4250. [CrossRef]
45. He, J.; Liu, H.; Balamurugan, S.; Shao, S. Fatty acids and volatile flavor compounds in commercial plant-based burgers. *J. Food Sci.* **2021**, *86*, 293–305. [CrossRef]
46. Rutkowska, J.; Antoniewska, A.; Martinez-Pineda, M.; Nawirska-Olszańska, A.; Zbikowska, A.; Baranowski, D. Black Chokeberry Fruit Polyphenols: A Valuable Addition to Reduce Lipid Oxidation of Muffins Containing Xylitol. *Antioxidants* **2020**, *9*, 394. [CrossRef]
47. Barros, J.C.; Munekata, P.E.S.; de Carvalho, F.A.L.; Pateiro, M.; Barba, F.J.; Domínguez, R.; Trindade, M.A.; Lorenzo, J.M. Use of tiger nut (*Cyperus esculentus* L.) oil emulsion as animal fat replacement in beef burgers. *Foods* **2020**, *9*, 44. [CrossRef]
48. Sikora, M.; Adamezyk, G.; Krystyjan, M.; Dobosz, A.; Tomasiak, P.; Berski, W.; Lukasiewicz, M.; Izak, P. Thixotropic properties of normal potato starch depending on the degree of the granules pasting. *Carbohydr. Polym.* **2015**, *121*, 254–264. [CrossRef]
49. Półtorak, A.; Wyrwisz, J.; Moczowska, M.; Marcinkowska-Lesiak, M. The impact of the aging process on the components of texture of beef from different production systems. *Postępy Tech. Przetwórstw. Spożywczego* **2014**, *2*, 112–119.
50. Grau, R.; Hamm, R. Eine einfache Methode zur Bestimmung der Wasserbindung im Muskel. *Die Naturwissenschaften* **1953**, *40*, 29–30. [CrossRef]
51. Hanula, M.; Pogorzelska-Nowicka, E.; Pogorzelski, G.; Szpicer, A.; Wojtasik-Kalinowska, I.; Wierzbicka, A.; Półtorak, A. Active Packaging of Button Mushrooms with Zeolite and Açai Extract as an Innovative Method of Extending Its Shelf Life. *Agriculture* **2021**, *11*, 653. [CrossRef]
52. Abay, Ö.D.; Özdikicierler, O.; Güntüskesen, A.S. Optimization of Ultrasound-Assisted Alkali Neutralization in the Refining of Safflower Oil to Minimize the Loss of Bioactive Compounds. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* **2021**, *123*, 2100004. [CrossRef]
53. Singleton, V.L.; Rossi, J.A. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *Am. J. Enol. Viticult.* **1965**, *16*, 144–158.
54. Belwal, T.; Dhyani, P.; Bhatt, I.D.; Rawal, S.R.; Pande, V. Optimization extraction conditions for improving phenolic content and antioxidant activity in *Berberis asiatica* fruits using response surface methodology (RSM). *Food Chem.* **2016**, *207*, 115–124. [CrossRef] [PubMed]

55. Brodowska, M.; Guzek, D.; Kolota, A.; Głabska, D.; Górską-Horczyczak, E.; Wojtasik-Kalinowska, I.; Wierzbicka, A. Effect of diet on oxidation and profile of volatile compounds of pork after freezing storage. *J. Food Nutr. Res.* **2016**, *55*, 40–47.
56. Wojtasik-Kalinowska, I.; Guzek, D.; Brodowska, M.; Godziszewska, J.; Górską-Horczyczak, E.; Pogorzelska-Nowicka, E.; Sakowska, A.; Gantner, M.; Wierzbicka, A. The effect of addition of *Nigella sativa* L. oil on the quality and shelf life of pork patties. *J. Food Process. Preserv.* **2017**, *41*, e13294. [[CrossRef](#)]
57. Ulbricht, T.L.V.; Southgate, D.A.T. Coronary heart disease: Seven dietary factors. *Lancet* **1991**, *338*, 985–992. [[CrossRef](#)]
58. Fernández, M.; Ordóñez, J.A.; Cambero, I.; Santos, C.; Pin, C.; de la Hoz, L. Fatty acid compositions of selected varieties of Spanish dry ham related to their nutritional implications. *Food Chem.* **2007**, *101*, 107–112. [[CrossRef](#)]
59. Górską-Horczyczak, E.; Wojtasik-Kalinowska, I.; Wierzbicka, A. Supplemental linseed oil and antioxidants affect fatty acid composition, oxidation and colour stability of frozen pork. *S. Afr. J. Anim. Sci.* **2020**, *50*, 253–263. [[CrossRef](#)]

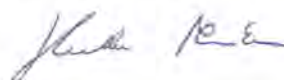
Warszawa, 14.06.2022r.

Monika Hanula  
monika\_hanula@sggw.edu.pl

**Rada Dyscypliny Technologia  
Żywności i Żywienia  
Szkoły Głównej Gospodarstwa  
Wiejskiego w Warszawie**

#### **Oświadczenie o współautorstwie**

Niniejszym oświadczam, że w pracy Hanula, M.; Szpicer, A.; Górską-Horczyczak, E.; Khachatryan, G.; Pogorzelski, G.; Pogorzelska-Nowicka, E.; Półtorak, A., 2022, Hydrogel Emulsion with Encapsulated Safflower Oil Enriched with Açai Extract as a Novel Fat Substitute in Beef Burgers Subjected to Storage in Cold Conditions, *Molecules*, 27, 2397, 1-27, mój indywidualny udział w jej powstaniu wynosił 60% i polegał na: współudziale w opracowaniu koncepcji badań i metodyk (hydrożelowej emulsji z kapsulkowanym olejem, analiza tekstury, całkowitej zawartości fenoli, aktywności antyoksydacyjnej ABTS oraz FRAP, analiza oksydacji lipidów TBARS, analiza związków lotnych, analiza profilu kwasów tłuszczowych), współudziale w prowadzeniu badań (tekstury, barwy, związków bioaktywnych oraz profilu związków lotnych oraz kwasów tłuszczowych, utrzymania wody własnej, pH, utraty masy fizjologicznej i termicznej), nadzorze nad prowadzeniem badań i przebiegiem doświadczenia, przeprowadzeniu analizy statystycznej wyników, przygotowaniu manuskryptu oraz udzieleniu odpowiedzi recenzentom (byłam autorem korespondencyjnym).



Podpis

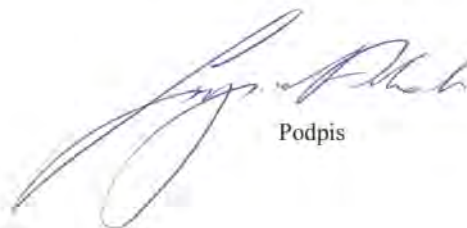
Warszawa, 14.06.2022r.

Arkadiusz Szpicer  
arkadiusz\_szpicer@sggw.edu.pl

**Rada Dyscypliny Technologia  
Żywności i Żywienia  
Szkoły Głównej Gospodarstwa  
Wiejskiego w Warszawie**

#### **Oświadczenie o współautorstwie**

Niniejszym oświadczam, że w pracy Hanula, M.; Szpicer, A.; Górską-Horczyzak, E.; Khachatryan, G.; Pogorzelski, G.; Pogorzelska-Nowicka, E.; Półtorak, A., 2022, Hydrogel Emulsion with Encapsulated Safflower Oil Enriched with Açai Extract as a Novel Fat Substitute in Beef Burgers Subjected to Storage in Cold Conditions, *Molecules*, 27, 2397, 1-27, mój indywidualny udział w jej powstaniu polegał na: współudział w opracowaniu metodyk (skaningowa kalorymetria różnicowa, reologia, tekstura, WHC, NIR) współudział w przeprowadzeniu analiz (skaningowa kalorymetria różnicowa, reologia, tekstura, WHC, NIR) współudział w edycji manuskryptu.



Podpis



Warszawa, 14.06.2022r.

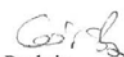
Elżbieta Górską-Horczyczak  
elzbieta\_gorska\_horczyczak@sggw.edu.pl

**Rada Dyscypliny Technologia  
Żywności i Żywienia**

**Szkoły Głównej Gospodarstwa  
Wiejskiego w Warszawie**

#### **Oświadczenie o współautorstwie**

Niniejszym oświadczam, że w pracy Hanula, M.; Szpicer, A.; Górską-Horczyczak, E.; Khachatryan, G.; Pogorzelski, G.; Pogorzelska-Nowicka, E.; Półtorak, A., 2022, Hydrogel Emulsion with Encapsulated Safflower Oil Enriched with Açai Extract as a Novel Fat Substitute in Beef Burgers Subjected to Storage in Cold Conditions, Molecules, 27, 2397, 1-27, mój indywidualny udział w jej powstaniu polegał na: współudział w przeprowadzeniu analizy związków lotnych.

  
Podpis

Załącznik nr 9

Warszawa, 14.06.2022r.

Gohar Khachatryan

gohar.khachatryan@urk.edu.pl

**Rada Dyscypliny Technologia  
Żywności i Żywienia**

**Szkoły Głównej Gospodarstwa  
Wiejskiego w Warszawie**

#### **Oświadczenie o współautorstwie**

Niniejszym oświadczam, że w pracy Hanula, M.; Szpicer, A.; Górską-Horczyczak, E.; Khachatryan, G.; Pogorzelski, G.; Pogorzelska-Nowicka, E.; Półtorak, A., 2022, Hydrogel Emulsion with Encapsulated Safflower Oil Enriched with Açai Extract as a Novel Fat Substitute in Beef Burgers Subjected to Storage in Cold Conditions, *Molecules*, 27, 2397, 1-27, mój indywidualny udział w jej powstaniu polegał na: przeprowadzeniu analizy za pomocą skaningowego mikroskopu elektronowego (SEM) oraz analiza metodą spektroskopii w podczerwieni z transformacją Fouriera (FTIR).



Podpis

Warszawa, 14.06.2022r.

Grzegorz Pogorzelski  
grzegorz\_pogorzelski@sggw.edu.pl

Rada Dyscypliny Technologia  
Żywności i Żywienia  
Szkoly Głównej Gospodarstwa  
Wiejskiego w Warszawie

#### Oświadczenie o współautorstwie

Niniejszym oświadczam, że w pracy Hanula, M.; Szpicer, A.; Górską-Horczyzak, E.; Khachatryan, G.; Pogorzelski, G.; Pogorzelska-Nowicka, E.; Półtorak, A., 2022, Hydrogel Emulsion with Encapsulated Safflower Oil Enriched with Açai Extract as a Novel Fat Substitute in Beef Burgers Subjected to Storage in Cold Conditions, Molecules, 27, 2397, 1-27, mój indywidualny udział w jej powstaniu polegał na: współudział w przeprowadzeniu analizy fizycznych produktów.

Podpis



Warszawa, 14.06.2022r.

Ewelina Pogorzelska-Nowicka  
ewelina\_pogorzelska@sggw.edu.pl

**Rada Dyscypliny Technologia  
Żywności i Żywienia  
Szkoły Głównej Gospodarstwa  
Wiejskiego w Warszawie**

#### **Oświadczenie o współautorstwie**

Niniejszym oświadczam, że w pracy Hanula, M.; Pogorzelska-Nowicka, E.; Pogorzelski, G.; Szpicer, A.; Wojtasik-Kalinowska, I.; Wierzbicka, A.; Półtorak, A., 2021, Active Packaging of button mushrooms with zeolite and açai extract as an innovative method of extending its shelf life, Agriculture, 11, 653, 1-16, mój indywidualny udział w jej powstaniu polegał na: współudział w przeprowadzeniu badań, współudział w edycji manuskryptu.

Podpis

*Ewelina Pogorzelska-Nowicka*

Załącznik nr 9

Warszawa, 14.06.2022r.

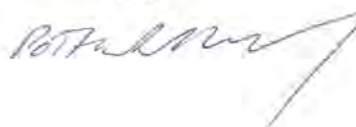
Andrzej Półtorak  
Andrzej\_poltorak@sggw.edu.pl

**Rada Dyscypliny Technologia  
Żywności i Żywienia  
Szkoły Głównej Gospodarstwa  
Wiejskiego w Warszawie**

#### **Oświadczenie o współautorstwie**

Niniejszym oświadczam, że w pracy Hanula, M.; Szpicer, A.; Górską-Horczyczak, E.; Khachatryan, G.; Pogorzelski, G.; Pogorzelska-Nowicka, E.; Półtorak, A., 2022, Hydrogel Emulsion with Encapsulated Safflower Oil Enriched with Açai Extract as a Novel Fat Substitute in Beef Burgers Subjected to Storage in Cold Conditions, *Molecules*, 27, 2397, 1-27, mój indywidualny udział w jej powstaniu polegał na: współudziale w opracowaniu koncepcji badań, nadzorowaniu realizowanych prac, współudziale w przygotowaniu manuskryptu, pozyskanie środków finansowych na realizację badań.

Podpis



## Article

# Quality of Beef Burgers Formulated with Fat Substitute in a Form of Freeze-Dried Hydrogel Enriched with Açai Oil

Monika Hanula <sup>1,\*</sup>, Arkadiusz Szpicer <sup>1</sup>, Elżbieta Górską-Horczyzak <sup>1</sup>, Gohar Khachatryan <sup>2</sup>, Ewelina Pogorzelska-Nowicka <sup>1</sup> and Andrzej Poltorak <sup>1</sup>

<sup>1</sup> Department of Technique and Food Development, Institute of Human Nutrition Sciences, Warsaw University of Life Sciences, Nowoursynowska 159c Street 32, 02-776 Warsaw, Poland; arkadiusz\_szpicer@sggw.edu.pl (A.S.); elzbieta\_gorska\_horczyzak@sggw.edu.pl (E.G.-H.); ewelina\_pogorzelska@sggw.pl (E.P.-N.); andrzej\_poltorak@sggw.edu.pl (A.P.)

<sup>2</sup> Department of Food Analysis and Evaluation of Food Quality, Faculty of Food Technology, University of Agriculture in Krakow, Mickiewicz Ave. 21, 31-120 Krakow, Poland; gohar.khachatryan@urk.edu.pl

\* Correspondence: monika\_hanula@sggw.edu.pl



**Citation:** Hanula, M.; Szpicer, A.; Górską-Horczyzak, E.; Khachatryan, G.; Pogorzelska-Nowicka, E.; Poltorak, A. Quality of Beef Burgers Formulated with Fat Substitute in a Form of Freeze-Dried Hydrogel Enriched with Açai Oil. *Molecules* **2022**, *27*, 3700. <https://doi.org/10.3390/molecules27123700>

Academic Editor: Lillian Barros

Received: 5 May 2022

Accepted: 7 June 2022

Published: 9 June 2022

**Publisher's Note:** MDPI stays neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.



**Copyright:** © 2022 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

**Abstract:** The growing number of people at high risk of cardiovascular disease development contributed to both changes in diets by consumers and the reformulation of food products by food producers. Cardiovascular diseases are caused by the i.a. consumption of meat that contains animal fat rich in saturated fatty acids (SFA). The use of fat substitutes in meat seems to be a promising tool for the reduction of cardiovascular disease occurrence. In the presented study, beef fat was replaced at 0 (CO), 25 (S-25%), 50 (S-50%), 75 (S-75%), and 100% (S-100%) by a fat substitute in a form of a lyophilized hydrogel emulsion enriched with encapsulated açai oil. The chemical (TBARS, volatile compound profile, fatty acid profile, pH), and physical (TPA, consumer rating, L\*a\*b\* color, cooking loss) analyses were performed on raw and grilled burgers subjected to storage at cold conditions (4 °C) in days 0 and 7. Burgers formulated with hydrogels had a higher content of polyunsaturated fatty acids (PUFAs) of about 32% ( $p < 0.05$ ) and reduced SFAs by 22%. Reformulation of the burger resulted in lower nutritional indices of the atherogenicity index (AI) (0.8 for CO, 0.3 for S-100%,  $p < 0.05$ ) and thrombogenicity index (TI) (1.8 for CO, 0.6 for S-100%,  $p < 0.05$ ), as well as led to an increased h/H ratio (1.3 for CO, 3.9 for S-100%,  $p < 0.05$ ). Furthermore the application of freeze-dried hydrogels reduced cooking loss. Moreover, consumers did not observe significant differences ( $p < 0.05$ ) between the control and S-25% and S-50% burgers. Thus, the use of lyophilized hydrogels formulated with konjac flour and sodium alginate and enriched with encapsulated açai oil can be successfully applied as a fat substitute in beef burgers.

**Keywords:** fatty acids profile; substitute fat; açai oil; health index; oxidation

## 1. Introduction

Burgers have become very popular around the world thanks to their quick preparation and high sensory acceptability. However, these products typically have a high animal fat content (20–30%). Animal fat is rich in saturated fatty acids (SFA). According to the World Health Organization, the very high intake of saturated fats has become a serious problem because SFA contributes to an increased risk of cardiovascular disease. For this reason, it is recommended to limit the intake of SFA [1–3]. Therefore, to ensure that meat products are more nutritionally beneficial, many studies have been conducted to reformulate meat products [4–8]. Ingredients have been changed by seeking alternative solutions to improve the lipid profile. One strategy to improve fatty acid profile values is to reduce SFA by limiting animal fat and/or using vegetable oils that enrich the product with MUFA and PUFA [2].

In this context, the use of fat substitutes is a promising method; however, the challenge is to use a substitute that does not negatively affect the consumer acceptance of the product while improving the health quality of the meat product.

Vegetable oil can be immobilized or encapsulated in hydrogels or oleogels [9]. Oleogels have been the subject of many studies, but due to their high production costs and the destructive effect of organogelators on the fatty acid profile (high polymerization temperature), these substances are very difficult to use in the food industry. In contrast, the use of emulsion hydrogels is cheaper when compared to oleogels and does not require high temperatures. Therefore, hydrogel emulsions are used for the immobilization/encapsulation of thermally sensitive compounds. Moreover, the oil content in hydrogel emulsions is <50%. By using this type of fat substitute, the fatty acid profile can be improved and the total fat content reduced. Encapsulation is an effective solution to increase the chemical and biological stability of active substances and protect them from unavoidable reactions in food systems. However, hydrogel, due to its high water content, has a limited lifetime related to the stability of the hydrogel system. Lyophilization of the hydrogel emulsion seems to be promising, as it extends the shelf life of the hydrogel emulsion without negatively affecting the bioactive compounds [9,10].

Increased consumer awareness of the impact of food on health, disease incidence, and overall well-being has contributed to the rapid development of functional foods and has increased interest in 'superfood' products. Recently, açai berries that are widely used in food products have enjoyed great popularity [11]. The extracted oil of the açai berry, despite its high PUFA content [12], is characterized by antiproliferative and anti-inflammatory properties and it has no genotoxic effects [13]. This oil also contains polyphenolic compounds, such as vanillic acid, ferulic acid, catechin, and syringic acid [14,15].

Through analyzing the above data, the food industry is currently facing difficulties in reducing the fat content of burgers. A reduced fat content in meat products can have a number of negative effects on sensory and process quality, such as increased cooking losses, reduced yield, altered texture, and reduced juiciness and flavor. In previous studies, fat substitutes in the form of hydrogel emulsions with encapsulated oil by coacervation was shown to improve the physical and chemical properties of beef burgers (Hanule et al. 2022). However, taking into account the fact that fat substitution in the form of hydrogel emulsions may not necessarily be a convenient form for their storage, transport, and introduction into the final product from a technological point of view, it was decided to look for a method to change the consistency of fat substitutes without having a destructive influence on the encapsulated oil. Therefore, the purpose of this study was to test the effect of freeze-dried fat substitute with encapsulated açai oil, on the quality of formulated beef burgers.

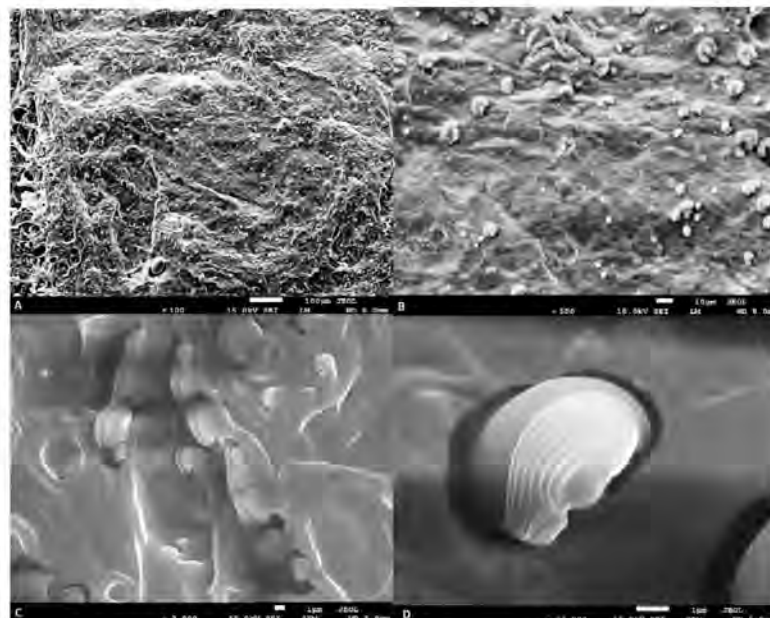
The aim of this study was to develop a reformulated burger with a reduced SFA content by using a fat substitute in the form of a freeze-dried hydrogel emulsion with encapsulated açai oil.

## 2. Results and Discussion

### 2.1. The Analysis of the Freeze-Dried Hydrogel Emulsion Using SEM

The SEM analysis of the freeze-dried hydrogel emulsion is shown in Figure 1. The SEM analysis showed that nanocapsules were obtained in a polysaccharide matrix and the freeze-drying process did not negatively affect their structure. The process of encapsulating açai oil in polymers (konjac flour and sodium alginate) resulted in the formation of multilayer shells. Multilayered nanocapsules were found throughout the matrix and their distribution was uniform.





**Figure 1.** SEM analysis of freeze-dried emulsion hydrogels with encapsulated açai oil (31%), (A,B)—distribution of nanocapsules; (C,D)—multilayer nanocapsules.

## 2.2. Physical Analyses of the Beef Burger

### 2.2.1. Color and pH Analysis

The first parameter that characterizes meat quality and that consumers pay attention to when choosing meat is its color. The results of the color analysis of raw and grilled burgers are shown in Table 1. In the analysis of the color parameters of raw burgers on day 0, the reformulations had no effect on the color parameters  $L^*$  and  $a^*$ , while the value of the parameter  $b^*$  increased with the increase in the percentage of a fat substitute. After 7 days of storage, the brightness parameter ( $L^*$ ) was highest for CO. With the increasing amount of tallow replacement, a slight decrease in the brightness parameter was observed. The fat replacement used, which was freeze-dried hydrogel, probably contributed to moisture binding, while the control sample probably had a higher drip loss, which increased the brightness of the burger by affecting its chromaticity [16–18]. Moreover, the parameter  $a^*$  decreased significantly with storage time for both CO and fat-replacement burgers ( $p < 0.05$ ). However, the smallest difference between day 7 and day 0 was observed in the S-100% variant. Furthermore, the parameter  $a^*$  in raw burgers on day 7 increased with an increasing percentage of fat replacement. The value of parameter  $b^*$  decreased with storage time in all reformulations used. Nevertheless, the fat replacement contributed to an increase in the value of parameter  $b^*$  when compared to CO. The decreases in the values of the color parameters  $a^*$  and  $b^*$  during storage indicate that the loss of redness is due to the conversion of oxymyoglobin to methemoglobin by free radicals. Free radicals are formed during lipid oxidation and interact with the heme group of myoglobin, initiating the oxidation of the molecule and causing the product to lose its color. Thus, free radicals formed during oxidation can damage the muscle fibers and reduce the pigmentation of the meat [17,19]. The results obtained suggest that the red color in the reformulations used is not only due to changes in myoglobin, but is also an effect of the fat substitute (Table 1). However, when analysing the differences between grilled burgers, the use of fat substitute contributed to higher values of  $a^*$  (8.47–8.89 for S-100%) and  $b^*$  (8.33–10.86 for



S-100%). When comparing the results of the color parameters  $L^*a^*b^*$  of grilled burgers with those of raw burgers, all reformulations showed lower values of the analyzed parameters after grilling. A similar trend was found in the study by Wang et al. [20]. This result is probably due to the heat treatment during which caramelization, protein denaturation and the Maillard reaction take place [21,22]. The values of the parameter  $\Delta E$  (data not shown) for the variants during storage for raw burgers were 9.3 for CO, 5.26 for S-25%, 3.9 for S-50%, 3.3 for S-75%, and 3.8 for S-100%. According to Altmann et al. [23], which was a detailed literature analysis of  $\Delta E$  in raw meat, it was concluded that a color difference as low as one is distinguishable by consumers. The results obtained indicate that there are significant differences in color change with storage time. In raw burgers, the variants containing  $\geq 50\%$  fat replacement had the least difference. This difference may be due to the form of the added vegetable oil, which was encapsulated. Moreover, these capsules were cross-linked in the vegetable polymer, causing limited access to factors accelerating fat oxidation processes (light, oxygen).

**Table 1.** Effect of the fat substitute used (freeze-dried hydrogel emulsion with encapsulated açai oil) on the color parameter ( $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ) and pH at 0 and 7 days of storage for both raw and grilled burgers.

|         | Day 0                      |                           |                            |                           | Day 7                      |                            |                            |                           |
|---------|----------------------------|---------------------------|----------------------------|---------------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|---------------------------|
|         | $L^*$                      | $a^*$                     | $b^*$                      | pH                        | $L^*$                      | $a^*$                      | $b^*$                      | pH                        |
| raw     |                            |                           |                            |                           |                            |                            |                            |                           |
| CO      | 42.15 (3.56)               | 21.26 (3.10) <sup>b</sup> | 10.96 (1.23) <sup>AB</sup> | 5.38 (0.02) <sup>AB</sup> | 47.19 (3.27) <sup>b</sup>  | 14.01 (1.66) <sup>AB</sup> | 7.83 (0.78) <sup>AB</sup>  | 5.67 (0.05) <sup>AB</sup> |
| S-25%   | 42.26 (2.91)               | 22.17 (1.69) <sup>b</sup> | 12.03 (1.31) <sup>AB</sup> | 5.50 (0.02) <sup>AB</sup> | 43.89 (4.18) <sup>AB</sup> | 17.24 (1.62) <sup>BC</sup> | 9.87 (0.85) <sup>BA</sup>  | 5.81 (0.13) <sup>BB</sup> |
| S-50%   | 42.75 (2.46)               | 22.43 (0.96) <sup>b</sup> | 11.75 (1.16) <sup>AB</sup> | 5.51 (0.04) <sup>BA</sup> | 41.91 (2.23) <sup>A</sup>  | 19.05 (2.60) <sup>BC</sup> | 9.92 (1.51) <sup>BA</sup>  | 5.68 (0.03) <sup>AB</sup> |
| S-75%   | 42.71 (2.17)               | 22.11 (2.13) <sup>b</sup> | 11.67 (1.32) <sup>AB</sup> | 5.56 (0.02) <sup>CA</sup> | 42.73 (4.15) <sup>A</sup>  | 19.06 (1.45) <sup>BC</sup> | 10.30 (0.99) <sup>BC</sup> | 5.69 (0.05) <sup>AB</sup> |
| S-100%  | 43.33 (2.59)               | 23.16 (1.36) <sup>b</sup> | 12.99 (0.89) <sup>BB</sup> | 5.56 (0.02) <sup>CA</sup> | 41.77 (2.30) <sup>A</sup>  | 20.05 (1.18) <sup>CA</sup> | 11.46 (1.28) <sup>CB</sup> | 5.67 (0.03) <sup>AB</sup> |
| SEM     | 0.381                      | 0.283                     | 0.189                      | 0.016                     | 0.534                      | 0.388                      | 0.226                      | 0.016                     |
| grilled |                            |                           |                            |                           |                            |                            |                            |                           |
| CO      | 30.75 (2.37) <sup>BA</sup> | 6.76 (0.40) <sup>A</sup>  | 6.8 (1.01) <sup>a</sup>    |                           | 37.76 (2.47) <sup>b</sup>  | 6.38 (0.55) <sup>A</sup>   | 8.82 (0.90) <sup>AB</sup>  |                           |
| S-25%   | 26.27 (2.19) <sup>AB</sup> | 6.78 (1.40) <sup>A</sup>  | 6.80 (1.50) <sup>a</sup>   |                           | 34.96 (2.73) <sup>b</sup>  | 6.72 (0.51) <sup>A</sup>   | 9.07 (0.97) <sup>AB</sup>  |                           |
| S-50%   | 28.36 (3.03) <sup>AB</sup> | 7.75 (1.16) <sup>AB</sup> | 8.24 (1.53) <sup>a</sup>   |                           | 37.39 (2.65) <sup>b</sup>  | 7.86 (0.77) <sup>B</sup>   | 10.09 (0.96) <sup>AB</sup> |                           |
| S-75%   | 29.14 (2.3) <sup>AB</sup>  | 8.05 (1.18) <sup>AB</sup> | 7.89 (1.58) <sup>a</sup>   |                           | 37.76 (2.90) <sup>b</sup>  | 8.04 (0.84) <sup>BC</sup>  | 10.31 (1.79) <sup>AB</sup> |                           |
| S-100%  | 29.74 (1.5) <sup>BA</sup>  | 8.47 (1.17) <sup>B</sup>  | 8.33 (1.34) <sup>a</sup>   |                           | 38.32 (2.74) <sup>b</sup>  | 8.89 (1.15) <sup>C</sup>   | 10.86 (1.23) <sup>BB</sup> |                           |
| SEM     | 0.382                      | 0.180                     | 0.214                      |                           | 0.403                      | 0.170                      | 0.198                      |                           |

The numbers in brackets are standard errors. <sup>A-C</sup>—means with different letters showing a significant effect of the treatment group in the same day of storage,  $p < 0.05$ . <sup>ab</sup>—means with different letters showing a significant effect of storage time in each treatment group,  $p > 0.05$ .

The effects of the reformulations on the pH of raw burgers at 0 and 7 days of storage are shown in Table 1. The analysis shows that the pH increased with increasing storage time regardless of the type of reformulation used. A similar result was found in the study by Sharaf et al. [24] and Soares et al. [25]. The increase in pH during storage is related to protein degradation and to the formation of volatile compounds of the nitrogen, amine or hydrogen sulfide group [26]. Nevertheless, the fat replacement in the form of a freeze-dried hydrogel emulsion with encapsulated oil contributed to an increase in pH when compared to the control on day 0 (5.38 CO, 5.50–5.56 S-25%–S-100%). This effect is probably related to the pH of the fat replacement used. On the other hand, the slowing down of the pH increase during storage could be due to water retention in the spaces of the freeze-dried biopolymer.

## 2.2.2. Texture Analysis and Cooking Loss

The fat replacement changed the texture parameters; the results are shown in Table 2. The analysis of parameters such as hardness, springiness, and cohesiveness showed significant differences between the different reformulations ( $p < 0.05$ ). The control variant (CO) had the highest texture parameters (hardness, springiness, cohesiveness) after both 0 and 7 days of storage (102.36–75.82 (N), 0.53 (-), 0.38 (-), respectively). With the increasing substitution of beef tallow by the fat replacement, the studied parameters decrease significantly ( $p < 0.05$ ). From the data obtained, it follows that the tallow content in the burger increases the values of the texture parameters. Similar results were found in the studies by Moghtadaei et al. [27], Zetzi et al. [28], and Paglarini et al. [29]. On the

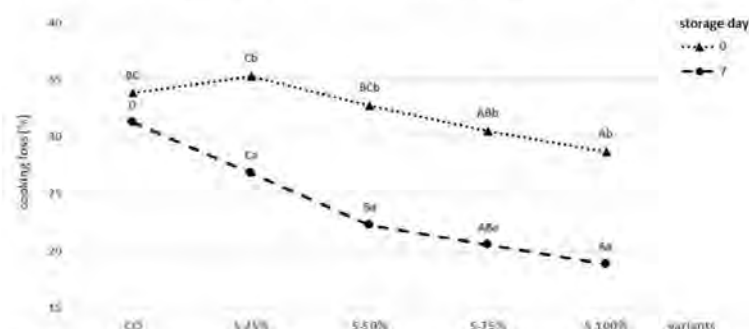
other hand, literature analysis shows an ambiguous trend. The studies carried out by Foggiano et al. [30], Alejandre et al. [31], and Heck et al. [2] demonstrate an opposite trend. Studies have shown that the main factor influencing the texture of food products is the fat structure. The physicochemical properties of fat and its interaction with meat may explain the differences between the reformulations used and the differences resulting from the type of fat substitute used [1].

**Table 2.** Influence of freeze-dried hydrogel emulsions with the encapsulation açai oil as a fat substitute on the texture parameters (TPA) of grilled burgers at 0 and 7 storage day.

| Storage Day | Variants | Hardness (N)                | Springiness (-)           | Cohesiveness (-)           |
|-------------|----------|-----------------------------|---------------------------|----------------------------|
| 0           | CO       | 75.82 (5.07) <sup>Ca</sup>  | 0.53 (0.06) <sup>C</sup>  | 0.39 (0.03) <sup>B</sup>   |
|             | S-25%    | 31.44 (2.31) <sup>Ba</sup>  | 0.48 (0.03) <sup>BC</sup> | 0.36 (0.02) <sup>Bb</sup>  |
|             | S-50%    | 20.64 (7.07) <sup>BA</sup>  | 0.39 (0.07) <sup>B</sup>  | 0.33 (0.02) <sup>Bb</sup>  |
|             | S-75%    | 10.29 (0.47) <sup>Aa</sup>  | 0.2 (0.01) <sup>A</sup>   | 0.23 (0.01) <sup>Aa</sup>  |
|             | S-100%   | 10.21 (0.68) <sup>Aa</sup>  | 0.26 (0.04) <sup>A</sup>  | 0.25 (0.03) <sup>A</sup>   |
| 7           | CO       | 102.36 (1.94) <sup>DB</sup> | 0.52 (0.01) <sup>B</sup>  | 0.38 (0) <sup>C</sup>      |
|             | S-25%    | 44.83 (3.25) <sup>Cb</sup>  | 0.4 (0.04) <sup>AB</sup>  | 0.3 (0.02) <sup>Ba</sup>   |
|             | S-50%    | 27.36 (4.57) <sup>B</sup>   | 0.38 (0.05) <sup>AB</sup> | 0.28 (0.03) <sup>ABa</sup> |
|             | S-75%    | 20.57 (3.13) <sup>BAb</sup> | 0.34 (0.09) <sup>AB</sup> | 0.29 (0.03) <sup>ABb</sup> |
|             | S-100%   | 18.63 (1.07) <sup>Ab</sup>  | 0.27 (0.06) <sup>A</sup>  | 0.24 (0.02) <sup>A</sup>   |
| SEM         |          | 5.366                       | 0.021                     | 0.011                      |

The numbers in brackets are standard error. <sup>A-D</sup> mean values between variants on the same storage day with different letters indicate significant difference. <sup>a,b</sup> mean values on the same variants, between storage day with different letters indicate significant difference.

Figure 2 shows the effect of fat replacement in the form of a freeze-dried hydrogel emulsion with encapsulated oil on cooking loss parameters. Cooking losses are the main problem when replacing animal fat with oils in meat products [32]. The highest losses when grilling beef burgers occurred in CO after 0 days and 7 days of storage (34 and 31%, respectively). Moreover, this parameter decreased significantly (0 storage day,  $p < 0.05$ ) depending on the degree of animal fat replacement (S-25%, S-50%, S-75%, S-100%). This trend is confirmed by studies conducted by Moghtadaei et al. [26], who used ethylcellulose oleogel as a fat replacement. The decrease in cooking losses during storage observed for all reformulations used is probably related to the loss of intrinsic water during storage as well as the water-binding property of the freeze-dried hydrogel emulsion [27,33].

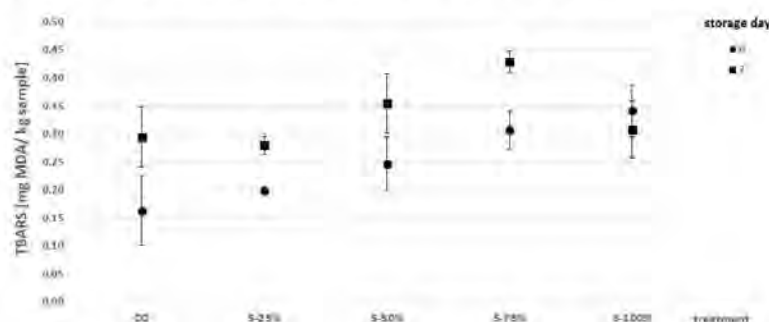


**Figure 2.** Analysis of cooking losses in grilled burgers with fat replacement after 0 and 7 days of storage. <sup>A-D</sup>—means with different letters showing a significant effect of the treatment group in the same day of storage,  $p < 0.05$ . <sup>a,b</sup>—means with different letters showing a significant effect of storage time in each treatment group,  $p > 0.05$ .

### 2.3. Chemical Analyses of the Beef Burger

#### 2.3.1. Oxidation Lipids Analysis

The results of the lipid oxidation analysis of burgers with fat substitutes are presented in Figure 3. The values obtained for TBARS analysis ranged from 0.162 (CO, day 0) to 0.429 mg MDA/kg sample (S-75%, day 7). The key factors of lipid oxidation in meat products are the fat content and the fatty acid profile [34]. Therefore, the resulting differences in TBARS values (day 0) in reformulated burgers could be due to the different proportions of fat used and thus the varying fatty acid profile. In our study, the degree of fat oxidation after 7 days of storage was higher in reformulations with 25, 50, and 75% beef fat replacement (S-25%, S-50%, S-75%). This result is probably related to the different susceptibility of fatty acids to the oxidative process [34]. This result is confirmed by the studies of Lorenzo et al. [35], Fonseca et al. [36], and Hautrive et al. [37], in which an increase in fat oxidation was observed in meat products with an increased content of unsaturated fatty acids when compared to saturated fatty acids. The results obtained (S-100%) show that structuring the added fat in the form of a freeze-dried hydrogel emulsion with encapsulated açai oil helped to slow down the oxidation process [31]. The lipid oxidation process leads to a reduction in the specificity and sensory quality of meat products. This is due to an increase in the spectrum of aromas and off-tastes (rancidity) as well as a decrease in the color parameters and texture, which affect the consumer acceptance of the product [34,38]. The threshold value that dictates the loss of sensory quality of food is  $>1.0$  mg MDA/kg burger. The study showed that the TBARS values increased with storage time, regardless of the burger reformulation used. Nevertheless, the values of lipid oxidation after 7 days of storage (0.279–0.429 mg MDA/kg sample) were significantly below the set threshold value.

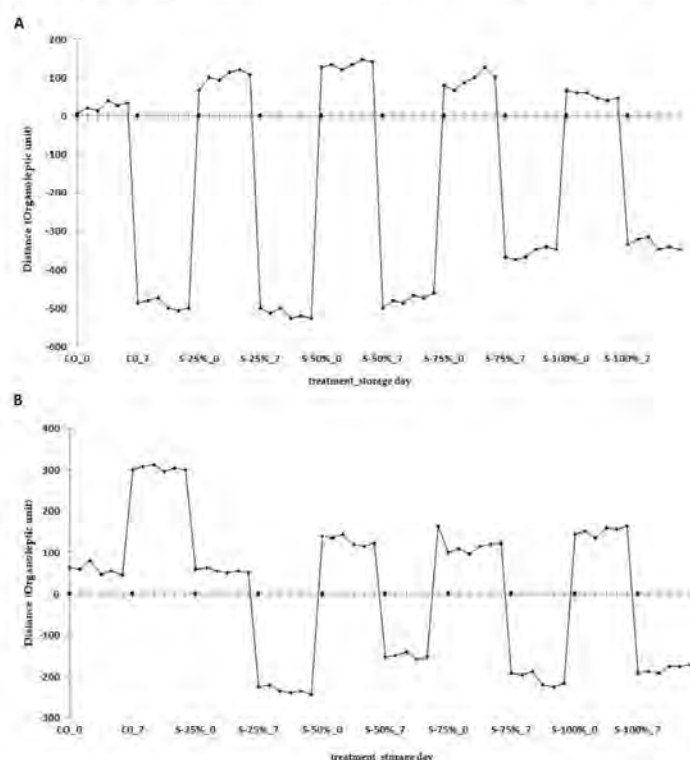


**Figure 3.** Analysis of lipid oxidation (TBARS) in burgers with substituted fat after 0 and 7 days of storage. CO-control with tallow (0% fat substitute), S-25%, S-50%, S-75%, S-100% means, respectively, replacing beef fat with 25, 50, 75, and 100% substitute.

#### 2.3.2. E-Nose Analysis

A statistical quality control plot of the differences in the volatile compound profiles of the reformulated burgers after 0 and 7 days of storage is shown in Figure 4. The analysis of the raw burger after 0 and 7 days of storage shows that significant changes in the volatile compound profile occur with increasing storage time. The analysis shows that the control variant (CO) had the lowest number of aroma units on day zero when compared to the other burger reformulations used. Replacing tallow with a fat substitute contributed to an increase in the number of aroma units, with the highest number being in the S-50% variant. However, when comparing the number of aroma units in CO and S-100% variants in raw burgers, it was found that the transformations due to storage time produced more volatile compounds in tallow than the fat substitute used. When analyzing the volatile compound profile in burgers grilled on day 0, the CO and S-25% reformulations had similar numbers of aroma units. Replacing fat with  $\geq 50\%$  with a freeze-dried hydrogel emulsion with

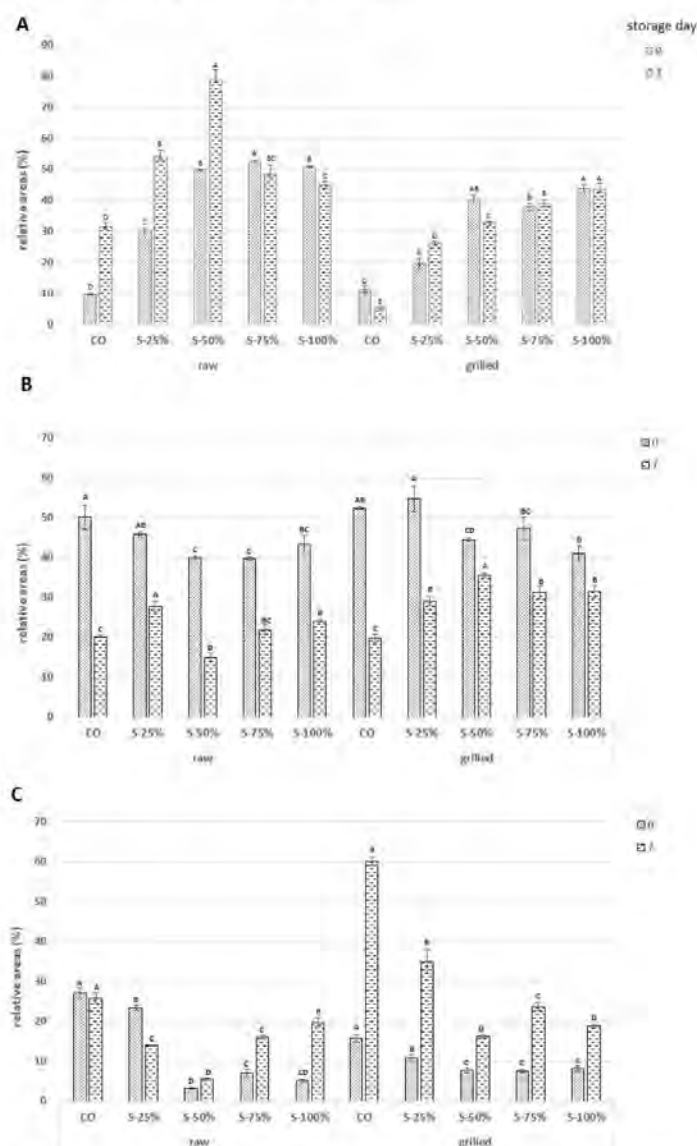
encapsulated açai oil significantly increased the number of aroma units in burgers grilled on day 0. The analysis of the changes in grilled burgers after 7 days of storage indicates that the CO aroma profile was significantly different from S-25%, S-50%, S-75%, and S-100%. Furthermore, the heat treatment significantly reduced the distance of the aroma units in grilled burgers when compared to raw burgers. Moreover, when analyzing the grilled burgers, the opposite trend to raw burgers was observed, i.e., as the replacement of tallow with freeze-dried hydrogel increased, the distance of the aroma units increased. The main groups of compounds formed during lipid oxidation are aldehydes, ketones alcohols, esters, and acids. These are formed when unsaturated fatty acids react with molecular oxygen, resulting in hydroperoxides that are unstable and decomposable [39,40].



**Figure 4.** Changes in the volatile compounds profile of raw burgers (A); grilled burgers (B); after 0, 7 days of storage ( $4 \pm 1$  °C); CO-control with tallow (0% fat substitute), S-25%, S-50%, S-75%, S-100% means respectively replacing beef fat with 25, 50, 75, and 100% substitute.

Figure 5 shows the relative peak area (%) of the main groups of volatile compounds, i.e., aldehydes (3C), ketones (3A), and alcohols (3B) in raw and grilled burgers with reformulations at day 0 and after 7 days of storage. The data presented show that the fat substitute used (S-100%) generates more volatile compounds belonging to the ketone group than CO for both the raw and grilled burgers on days 0 and 7 of storage. Nevertheless, in raw burgers, the variant S-50% had the highest number of ketone compounds. For grilled burgers, the number of ketone compounds remained at a similar level regardless of the storage time (S-75%, S-100%,  $p < 0.05$ ). The content of volatile compounds belonging to the alcohol group was significantly lower in grilled burgers than in raw burgers. In raw burgers, the lowest number of compounds belonging to the alcohol group was observed for

the S-50% variant (day 0 and 7) and the highest was observed for the control variant (day 0). In contrast, for grilled burgers, the number of aldehyde compounds increased significantly on day 7, especially for the control variant (60%). This observation is consistent with the study by Narsaiah et al. [41], which confirms an increased contribution of aldehydes to the volatile compound profile resulting from fat oxidation reactions and thermal processes such as Strecker degradation during grilling.



**Figure 5.** The relative peak areas (%) of the three main groups of volatile compounds: ketones (A), alcohols (B), and aldehydes (C) in beef burgers with substituted fat after 0 and 7 days of storage; CO-

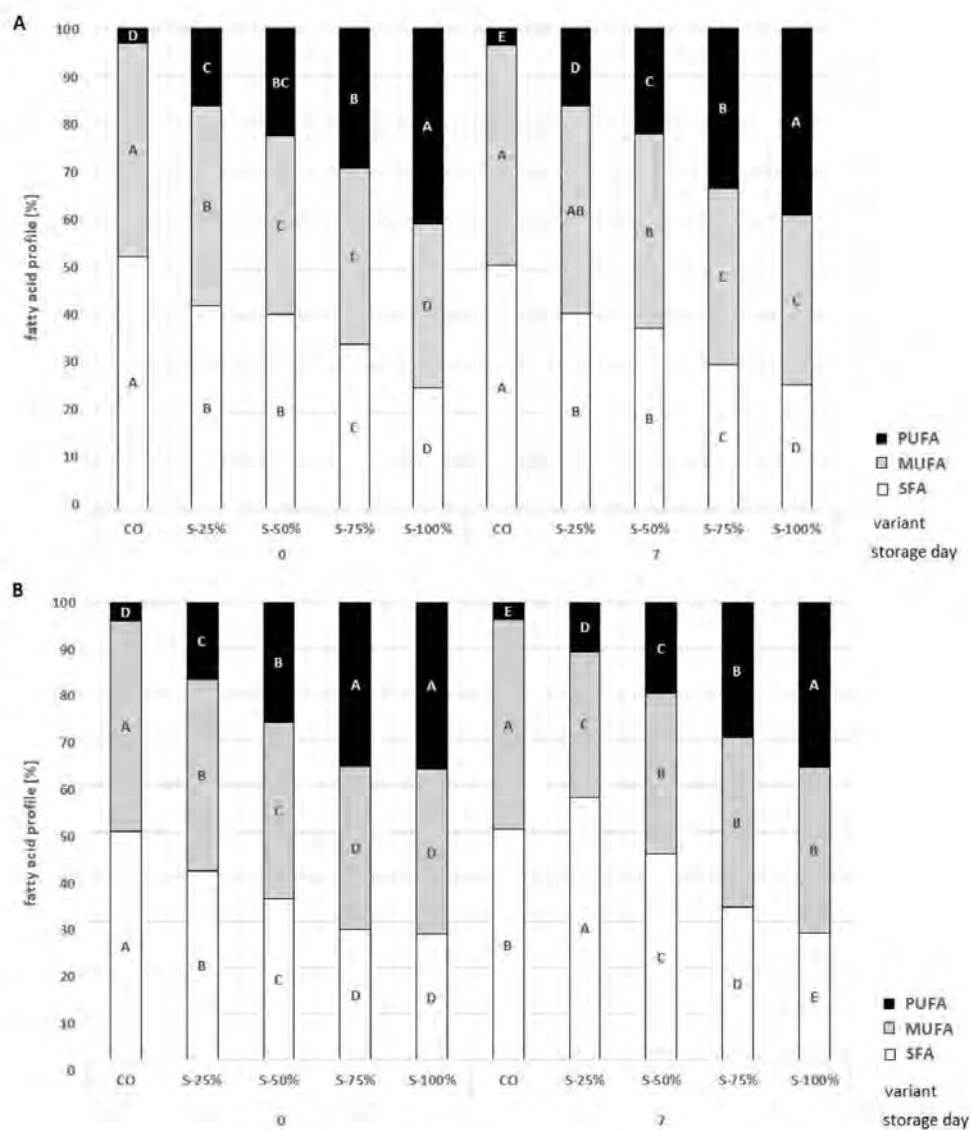


control with tallow (0% fat substitute), S-25%, S-50%, S-75%, S-100% means respectively replacing beef fat with 25, 50, 75, and 100% substitute. <sup>A-E</sup>—means with different letters showing a significant effect of the treatment group in the same day of storage,  $p < 0.05$ .

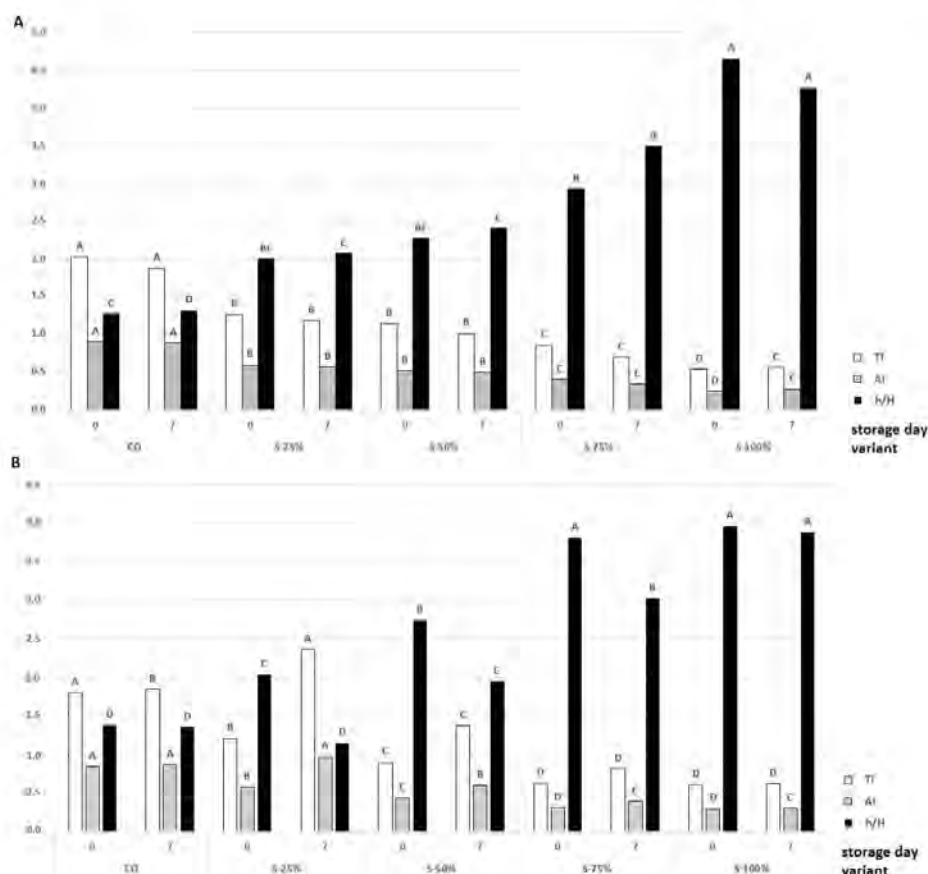
### 2.3.3. The Analysis of Fatty Acid Compounds and Health Indicators

The analysis of the profiles of SFA, PUFA, and MUFA in grilled and raw burgers after 0 and 7 days of storage is presented in Figure 6. When a fat substitute in the form of an encapsulated açai oil in freeze-dried hydrogel emulsion was used, the fatty acid profiles were improved. The CO variant had a profile of 52.5% SFA, 44.4% MUFA, and 3.1% PUFA. It was observed that the fatty acid profile changed with an increasing fat substitution ( $p < 0.05$ ). S-100% burgers had the highest PUFA content (25.0% SFA, 34.4% MUFA, 40.6% PUFA). Analysis of the fatty acid profile showed that the PUFA content decreases with storage time. This is due to oxidative processes during storage, where the free radicals oxidize the double bonds of the fatty acids (PUFA) [32,34]. Heat treatment such as grilling significantly affects the fatty acid profile through the occurrence of Maillard reactions. The analysis shows that the fat replacement used contributed to an improvement in the fatty acid profile of the grilled burgers. With increasing fat substitution, the PUFA value increased from 4.1% for CO to 36.5% for S-100%. PUFAs and MUFAs are known to lower plasma cholesterol levels and thus prevent cardiovascular disease [42]. Reducing SFAs is extremely important from a consumer perspective, as SFAs are considered to be fatty acids that are harmful to human health. International organizations such as the USDA (United States Department of Agriculture), FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations), and EFSA (European Food Safety Agency) recommend the lowest possible intake of SFA [43–45]. The use of a fat substitute reduced SFA by 22.6% for the grilled burgers (50.3 and 27.7% for CO and S-100% respectively,  $p < 0.05$ ). The differences between the fatty acid profile of raw and grilled burgers are due to the mechanisms occurring during the thermal processing of the burger, during which water loss, fat loss, oxidation, hydrolysis, or polymerization of triacylglycerol molecules occur [42].

In addition to the assessment of the fatty acid profile, the nutritional quality of the acids can be evaluated using indices such as PUFA/SFA, AI, TI, and h/H. These indices take into account the different (both suppressing and promoting) effects of the fatty acids on these processes. SFAs, which are thrombogenic, are not the same as atherogenic SFAs, as well as MUFAs, PUFAs show different degrees of protection against cardiovascular disease (thrombosis and atherosclerosis) [46]. It is recommended to consume products with a low atherogenicity and thrombogenicity index and the highest possible h/H ratio [46]. However, a PUFA:SFA ratio  $>0.45$  is recommended, as a lower value may contribute to cardiovascular disease [42,47]. The effect of using fat substitutes on nutritional indices is shown in Figure 7. In the experiment conducted, the ratio was significantly increased ( $p < 0.05$ ); for CO it was 0.06 while for the reformulations used it ranged from 0.38 (S-25%) to 1.3 (S-100%). The ratio increased with increasing fat substitution. Moreover, on day 0, the control variant in raw burgers had TI, AI, h/H amounting to 2.03, 0.9, and 1.29, respectively. The use of the fat substitute with encapsulated açai oil improved the health value of the beef burgers with TI, AI, h/H amounting to 0.54, 0.25, and 4.65, respectively. The values of the indices increased significantly ( $p < 0.05$ ) with increasing animal fat replacement. A similar trend was also observed for the grilled burgers, where the variant S-100% had the best nutritional parameters. Similar AI values (0.24) were found in the study by Rodríguez-Carpena et al. [48], who used avocado oil, sunflower oil, and olive oil as fat substitutes. Depending on the fat substitute and the type of vegetable fat source used, they affect the health index scores to different degrees [32,42,49].



**Figure 6.** Effects of a fat substitute (freeze-dried hydrogel emulsion with encapsulated açai oil) on the fatty acid profile of raw (A) and grilled (B) burgers at 0 and 7 days of storage in cold conditions; CO—control with tallow (0% fat substitute), S-25%, S-50%, S-75%, S-100% means respectively replacing beef fat with 25, 50, 75, and 100% substitute. A–E—means with different letters showing a significant effect of the treatment group in the same day of storage,  $p < 0.05$ .



**Figure 7.** Effects of a fat substitute (freeze-dried hydrogel emulsion with encapsulated açai oil) on the nutritional indexes AI, TI, and h/H of raw (A) and grilled (B) burgers at 0 and 7 days of storage in cold conditions; CO-control with tallow (0% fat substitute), S-25%, S-50%, S-75%, S-100% means respectively replacing beef fat with 25, 50, 75, and 100% substitute. <sup>A–D</sup>—means with different letters showing a significant effect of the treatment group in the same day of storage,  $p < 0.05$ .

#### 2.4. Sensory Evaluation of Burger Beef

As fat is an essential component of processed meat products, it plays an important role in the design of many parameters. Therefore, an assessment of consumer acceptance should be considered for products in which fat substitutes are used [30]. The results of consumer evaluation of grilled burgers with fat substitutes on day 0 and day 7 are presented in Table 3. The consumer ratings of burgers on day 0 and day 7 ranged from 4.0 to 8.6 points on an unstructured (linear) scale, with 0 meaning unacceptable and 10 points meaning a very acceptable product. On day 0, the results showed that the reformulated burgers did not differ ( $p < 0.05$ ) in parameters such as color, flavor and juiciness. On the other hand, the consumer ratings showed significant differences ( $p < 0.05$ ), with appearance, taste, texture, and overall acceptability, decreasing with increasing animal fat substitution on day 0. However, consumers rated both the control variant and the burgers with fat replacement worse after 7 days of storage than on day 0. This effect indicates that with increasing storage time, changes occur that lead to a loss of product quality [33]. On day 0, consumers



rated the burgers CO, S-25%, and S-50% with >6.6 points for each parameter analyzed. Nevertheless, no reformulation was unacceptable to consumers during the analysis. The high scores of the control variant (>8.0) in the analysis of appearance, color, flavor, taste, juiciness, texture, and overall acceptability confirm the importance of the type of fat in a burger and how challenging it is to substitute animal fat with a fat replacement to fully meet consumer needs [29].

**Table 3.** Analysis of the effect of substitute fat on the sensory attributes measured on the 0 and 7 storage day.

| Storage Day | Treatment               |                          |                                                   |                          |                         |
|-------------|-------------------------|--------------------------|---------------------------------------------------|--------------------------|-------------------------|
|             | CO                      | S-25%                    | S-50%                                             | S-75%                    | S-100%                  |
| 0           | 8.6 (1.26) <sup>A</sup> | 7.6 (1.47) <sup>AB</sup> | Appearance<br>7.0 (0.92) <sup>AB</sup>            | 6.4 (2.47) <sup>AB</sup> | 5.5 (2.30) <sup>B</sup> |
|             | 8.2 (0.96) <sup>A</sup> | 7.9 (0.98) <sup>A</sup>  | 6.0 (1.34) <sup>B</sup>                           | 5.7 (1.34) <sup>B</sup>  | 5.2 (2.28) <sup>B</sup> |
| 0           | 8.1 (1.40)              | 7.6 (1.19)               | Color<br>6.7 (1.33)                               | 6.6 (1.73)               | 6.3 (1.82)              |
|             | 8.0 (0.76) <sup>A</sup> | 7.4 (1.64) <sup>AB</sup> | 5.9 (2.21) <sup>B</sup>                           | 5.9 (1.36) <sup>B</sup>  | 5.5 (1.29) <sup>B</sup> |
| 0           | 8.4 (1.46)              | 8.0 (1.34)               | Flavor<br>7.0 (1.71)                              | 6.7 (1.94)               | 6.5 (2.62)              |
|             | 7.9 (1.20) <sup>A</sup> | 7.4 (1.59) <sup>AB</sup> | 6.0 (1.50) <sup>AB</sup>                          | 5.7 (1.70) <sup>B</sup>  | 5.4 (1.78) <sup>B</sup> |
| 0           | 8.5 (1.30) <sup>A</sup> | 7.9 (1.24) <sup>AB</sup> | Taste<br>6.6 (1.57) <sup>ABC</sup>                | 5.9 (2.23) <sup>BC</sup> | 5.4 (1.59) <sup>C</sup> |
|             | 7.3 (1.41) <sup>A</sup> | 6.8 (1.30) <sup>A</sup>  | 5.0 (1.84) <sup>B</sup>                           | 4.8 (1.94) <sup>B</sup>  | 4.7 (1.79) <sup>B</sup> |
| 0           | 8.0 (1.80)              | 7.5 (1.87)               | Juiciness<br>7.3 (1.47)                           | 6.2 (1.77)               | 6.3 (1.63)              |
|             | 6.9 (2.16)              | 6.6 (1.41)               | 5.7 (2.01)                                        | 5.1 (1.30)               | 5.1 (1.64)              |
| 0           | 8.2 (1.80) <sup>A</sup> | 7.4 (2.26) <sup>A</sup>  | Texture<br>6.6 (1.58) <sup>AB</sup>               | 4.7 (1.94) <sup>BC</sup> | 4.0 (2.57) <sup>C</sup> |
|             | 6.7 (2.13)              | 6.5 (2.06)               | 5.4 (2.02)                                        | 4.9 (1.94)               | 4.3 (1.66)              |
| 0           | 8.3 (1.55) <sup>A</sup> | 7.6 (1.69) <sup>AB</sup> | Overall acceptability<br>6.8 (1.76) <sup>AB</sup> | 5.6 (2.21) <sup>BC</sup> | 4.5 (2.26) <sup>C</sup> |
|             | 7.4 (1.40) <sup>A</sup> | 6.7 (1.61) <sup>AB</sup> | 5.1 (1.42) <sup>B</sup>                           | 5.0 (1.45) <sup>B</sup>  | 4.9 (1.72) <sup>B</sup> |

The numbers in brackets are standard error. <sup>A-C</sup> mean values between variants on the same storage day with different letters indicate significant difference. CO-control with tallow (0% fat substitute), S-25%, S-50%, S-75%, S-100% means respectively replacing beef fat with 25, 50, 75, and 100% substitute.

## 2.5. Correlation between the Chemical and Physical Parameters Analyzed in Grilled Burgers

Correlation analysis (Table 4) showed that the evaluated parameters of the consumer analysis (appearance, color, flavor, taste, juiciness, texture, and overall acceptability) are highly correlated ( $p < 0.05$ ), with values ranging from 0.80 to 0.97. Consumer rating is influenced by many coupled attributes of the product being evaluated. Any change in one sensory attribute can lead to a different perception of other attributes and the overall quality [50]. Therefore, high significance was found in the correlation analysis not only for the consumer evaluation parameters but also for the physicochemical analyses (SFA, MUFA, PUFA, hardness, springiness,  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ). The analysis also revealed a highly significant negative correlation between SFA, MUFA and the content of volatile compounds belonging to the ketone group ( $-0.78$ ,  $-0.75$ ,  $p < 0.05$ , respectively). In contrast, a positive correlation was found for PUFA and ketone compounds ( $0.93$ ,  $p < 0.05$ ). Moreover, a significant negative correlation was found for SFA and PUFA content. This is probably related to the oxidation of fatty acids, under the influence of which the double bonds are reduced until saturation. The correlation analysis also showed a positive correlation between hardness (TPA analysis) and elasticity (TPA analysis). Correlation analysis of the color  $L^*$  showed it had a high positive correlation with the color parameters  $a^*$  and  $b^*$  ( $0.86$ ,  $0.73$ ,  $p < 0.05$ , respectively). Similar relationships were found in a previous study by [33]. Moreover, the color parameter pH is negatively correlated with volatile compounds from the alcohol group ( $-0.8$ ,  $p < 0.05$ ).

**Table 4.** Analysis of correlations between the fatty acid profile (SFA, MUFA, and PUFA), color parameters (L\*, a\*, b\* and BI) and WHC, pH, weight and cooking loss, TBARS, and TPA parameters (springiness, hardness) in grilled burgers.

|     | SA      | SC      | SF      | STa     | SJ      | STe     | SOa     | FS      | FM      | FP      | TT      | TS      | L*      | a*     | b*      | pH      | EAd    | EAK  | EK |
|-----|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|--------|---------|---------|--------|------|----|
| SA  | 1       |         |         |         |         |         |         |         |         |         |         |         |         |        |         |         |        |      |    |
| SC  | 0.92 *  | 1       |         |         |         |         |         |         |         |         |         |         |         |        |         |         |        |      |    |
| SF  | 0.95 *  | 0.96 *  | 1       |         |         |         |         |         |         |         |         |         |         |        |         |         |        |      |    |
| STa | 0.94 *  | 0.94 *  | 0.98 *  | 1       |         |         |         |         |         |         |         |         |         |        |         |         |        |      |    |
| SJ  | 0.83 *  | 0.87 *  | 0.92 *  | 0.92 *  | 1       |         |         |         |         |         |         |         |         |        |         |         |        |      |    |
| STe | 0.91 *  | 0.80 *  | 0.86 *  | 0.90 *  | 0.84 *  | 1       |         |         |         |         |         |         |         |        |         |         |        |      |    |
| SOa | 0.96 *  | 0.88 *  | 0.93 *  | 0.96 *  | 0.87 *  | 0.97 *  | 1       |         |         |         |         |         |         |        |         |         |        |      |    |
| FS  | 0.81 *  | 0.6     | 0.64 *  | 0.62    | 0.41    | 0.71 *  | 0.69 *  | 1       |         |         |         |         |         |        |         |         |        |      |    |
| FM  | 0.6     | 0.67 *  | 0.65 *  | 0.69 *  | 0.65 *  | 0.66 *  | 0.70 *  | 0.26    | 1       |         |         |         |         |        |         |         |        |      |    |
| FP  | −0.90 * | −0.75 * | −0.78 * | −0.77 * | −0.58   | −0.84 * | −0.83 * | −0.94 * | −0.58   | 1       |         |         |         |        |         |         |        |      |    |
| TT  | 0.79 *  | 0.75 *  | 0.69 *  | 0.67 *  | 0.49    | 0.68 *  | 0.72 *  | 0.75 *  | 0.73 *  | −0.90 * | 1       |         |         |        |         |         |        |      |    |
| TS  | 0.82 *  | 0.7 *   | 0.75 *  | 0.78 *  | 0.66 *  | 0.89 *  | 0.85 *  | 0.79 *  | 0.72 *  | −0.93 * | 0.82 *  | 1       |         |        |         |         |        |      |    |
| L*  | −0.27   | −0.37   | −0.5    | −0.50   | −0.66 * | −0.29   | −0.34   | 0.19    | −0.15   | −0.10   | 0.26    | −0.01   | 1       |        |         |         |        |      |    |
| a*  | −0.95 * | −0.85 * | −0.88 * | −0.85 * | −0.71 * | −0.86 * | −0.88 * | −0.87 * | −0.55   | 0.93 *  | −0.80 * | −0.86 * | 0.13    | 1      |         |         |        |      |    |
| b*  | −0.66 * | −0.75 * | −0.84 * | −0.83 * | −0.88 * | −0.63   | −0.69 * | −0.21   | −0.51   | 0.36    | −0.24   | −0.4    | 0.86 *  | 0.54   | 1       |         |        |      |    |
| pH  | −0.28   | −0.38   | −0.47   | −0.53   | −0.65 * | −0.41   | −0.44   | 0.20    | −0.61   | 0.05    | −0.05   | −0.23   | 0.73 *  | 0.09   | 0.76 *  | 1       |        |      |    |
| EAd | 0.42    | 0.39    | 0.25    | 0.19    | 0.02    | 0.25    | 0.28    | 0.60    | 0.30    | −0.61   | 0.78 *  | 0.48    | 0.63    | −0.55  | 0.26    | 0.54    | 1      |      |    |
| EAK | 0.15    | 0.2     | 0.34    | 0.40    | 0.50    | 0.29    | 0.29    | −0.22   | 0.18    | 0.12    | −0.32   | 0.01    | −0.86 * | 0.00   | −0.75 * | −0.83 * | −0.8 * | 1    |    |
| EK  | −0.88 * | −0.84 * | −0.83 * | −0.82 * | −0.62   | −0.80 * | −0.84 * | −0.78 * | −0.75 * | 0.93 *  | −0.93 * | −0.88 * | −0.02   | 0.92 * | 0.48    | 0.18    | −0.62  | 0.05 | 1  |

\*  $p \leq 0.05$ . SA—appearance, SC—color, SF—flavor, STa—taste, SJ—juiciness, STe—texture, SOa—overall acceptability, FS—SFA, FM—MUFA, FP—PUFA, TT—hardness, TS—springiness, EAd—aldehyde, EAK—alcohol, EK—ketone.

### 3. Material and Methods

#### 3.1. Preparation of the Fat Substitute

A freeze-dried hydrogel emulsion based on konjac flour and sodium alginate with encapsulated açai oil (PURO PURA, Brazil's Finest), and the addition of flaxseed meal flour was used as a fat substitute. The hydrogel emulsion was prepared according to a method previously developed by the authors [33]. Briefly, gelation involved dissolving 2 g of sodium alginate (agnex 1999) and 0.86 g of konjac flour (green essence) in 100 mL of H<sub>2</sub>O at 60 °C with constant stirring until a clear solution was obtained. The prepared emulsion (2:1 oil: H<sub>2</sub>O) was homogenized in the biocomposite obtained. Then, defatted flaxseed flour (Oleofarm, LenVitol) was added to crisp up the freeze-dried product (5 g flaxseed flour/95 g hydrogel emulsion). The resulting hydrogel with encapsulated oil (31%) was freeze-dried.

#### 3.2. The Preparation and Packaging of Beef Burgers

The characteristics of the raw materials used in the experiment (base composition of the meat, fatty acid profile of beef tallow and açai oil, and color of fat substitute) are given in Table 5. The burgers were prepared according to the reformulation shown in Table 6. The beef (neck muscles, from Zakłady Mięsne Wierzejki Sp. z o.o., Phudy, Poland) without excess connective tissue and fat was minced. The beef and beef tallow were then ground separately using a meat grinder with an Ø 8 mm plate (PI-22-TU-T, Edesa, Mondragón, Spain). The control variant was a burger with beef tallow added. All the indicated ingredients of the reformulation were mixed in the specified proportions to form burgers with the following dimensions: 120 ± 1 g, Ø 10 cm, 25 mm thick. The formed burgers were then placed on trays (polyethylene terephthalate-PET) measuring 137 × 187 × 50 mm. The burgers were packed in MAP (80 O<sub>2</sub>, 20% CO<sub>2</sub>), using a 35-µm-thick PSF film (PSF35ZAC, PolTechPack Sp. z o.o.). The packaged burgers were stored for 7 days at 4 °C ± 1 °C. Analyses such as color, pH, fatty acid profile, volatile compound profile, and TBARS were carried out on raw burgers on days 0 and 7. On a specified day of analysis, the burgers were grilled (Grill Machines, model S-165 K, Silex, Hamburg, Germany), and heated to 210 °C (top plate) and 190 °C on the bottom plate until 75 °C was reached at the geometric center of each burger (measured using a thermocouple). The burgers were then cooled to 25 °C. The grilled burgers were used for tests, including color, cooking loss, texture profile analysis (TPA), volatile compound profile analysis, fatty acid profile analysis, and consumer evaluation on days 0 and 7 of storage. The experimental setup involved two biological replicates.

Table 5. Basic composition of the substrates used in the experiment.

| Fatty Acid Profile (%) | Açai Oil | Tallow |
|------------------------|----------|--------|
| C14:0                  | 0.08     | 3.57   |
| C14:1 n5 c-9           | 0.00     | 1.19   |
| C15:0                  | 0.01     | 0.36   |
| C16:0                  | 8.27     | 26.91  |
| C16:1 n7 c-9           | 0.08     | 3.79   |
| C17:0                  | 0.06     | 0.85   |
| C17:1 n7 c-10          | 0.03     | 0.63   |
| C18:0                  | 3.38     | 15.36  |
| C18:1 n9 c-9           | 28.73    | 44.13  |
| C18:2 n6 c-9,12        | 54.51    | 1.71   |
| C18:3 n3 c-9,12,15     | 2.95     | 0.24   |
| C20:0                  | 0.32     | 0.11   |
| C18:2 c-9, t-11        | 0.00     | 0.43   |
| C22:0                  | 0.53     | 0.02   |
| C24:0                  | 0.18     | 0.00   |
| SFA                    | 13.35    | 47.38  |
| MUFA                   | 28.84    | 49.76  |
| PUFA                   | 57.81    | 2.86   |

Table 5. Cont.

| Fatty Acid Profile (%) | Açaí Oil       | Tallow |
|------------------------|----------------|--------|
| Primary composition    | meat           |        |
| Protein                | 19.6%          |        |
| Moisture               | 68.54%         |        |
| fat                    | 8.21%          |        |
| color                  | Substitute fat |        |
| L*                     | 54.87          |        |
| a*                     | 25.11          |        |
| b*                     | 16.34          |        |

**Table 6.** Formulations of beef burger with substitute fat (konjac flour, sodium alginate, linseed flour, encapsulated açai oil), CO—control (0% substitute fat), S-25%—25% substitute fat, S-50%—50% substitute fat, S-75%—75% substitute fat, S-100%—100% substitute fat. These proportions represent the ingredients of a 120 g burger.

| Treatment Identification | Substitute Fat (%) | Beef Meat (g) | Tallow (g) | Freeze-Dried Emulsion Hydrogel (g) |
|--------------------------|--------------------|---------------|------------|------------------------------------|
| CO                       | 0                  | 96            | 24         | 0                                  |
| S-25%                    | 25                 | 96            | 18         | 6                                  |
| S-50%                    | 50                 | 96            | 12         | 12                                 |
| S-75%                    | 75                 | 96            | 6          | 18                                 |
| S-100%                   | 100                | 96            | 0          | 24                                 |

All are formulated with 1.4% salt and 0.35% pepper.

### 3.3. Chemical Analyses

#### 3.3.1. Thiobarbituric Acid Reactive Substances Analysis (TBARS)

The extraction method and method for the determination of lipid oxidation by Brodowska et al. [51] was applied with a minor modification. The absorbance of the resulting reaction color complex was measured using a UV-VIS spectrophotometer (Shimadzu UV-1800; Shimadzu, Kyoto, Japan). The resulting lipid oxidation is presented as milligrams of malondialdehyde (MDA)/100 g sample.

#### 3.3.2. Analysis of the Fatty Acid Profile and Health Indicators

Fatty acid profile analysis was performed on beef tallow, açai oil, raw burger, and grilled burgers after 0 and 7 days of storage. Lipids were methylated using the method described by Wojtasik-Kalinowska et al. [52] and Heck et al. [53] that was slightly modified. The resulting mixture of fatty acid methyl esters was analyzed using a gas chromatograph (Shimadzu GC-2010, Shimadzu, Kyoto, Japan) with a flame ionization detector (FID). The chromatograph was equipped with a Zebtron ZB-FAME column (GC Cap. Column, 60 m × 0.25 mm × 0.2 µm, Ea). The initial column temperature was 100 °C, held for 3 min, then was increased gradually to 240 °C at a rate of 2.5 °C/min. The final temperature was held for 10 min. For the identification of FAME, the FAME Mix-37 pattern was used (Supelco, TraceCERT®, EC:200-838-9, SKU: CRM47885). The results obtained were presented as a fatty acid profile. In addition, thrombogenicity (TI) and atherogenicity (AI) were determined according to the method described by Ulbricht and Southgate [46] and the hypocholesterolemic/hypercholesterolemic (h/H) ratio was calculated according to Fernández et al. [54] according to the following formula.

$$\begin{aligned}
 TI &= \frac{C14:0 + C16:0 + 18.0}{(0.5 \times \Sigma MUFA) + (0.5 \times \Sigma n-6) + (3 \times \Sigma n-3) + \left( \frac{\Sigma n-3}{\Sigma n-6} \right)} \\
 AI &= \frac{C12:0 + (4 \times C14:0) + 16.0}{(\Sigma PUFA \ n-3) + (\Sigma PUFA \ n-6) + (\Sigma MUFA)} \\
 \frac{h}{H} &= \frac{C18:1n7 + \Sigma PUFA}{C14:0 + C16:0}
 \end{aligned}$$

### 3.3.3. Analysis of the Volatile Compounds

Analysis of volatile compounds was performed using a Heracles II e-nose instrument (Alpha MOS Co., Toulouse, France), which employed gas chromatography with a flame ionization detector and a retention index counting application with AroChemBase library (AlphaSoft software v12.42, Alpha MOS Co., Toulouse, France). The gas chromatograph was equipped with two capillary columns of different polarity, DB-1701, and DB-5, with  $10\text{ m} \times 0.18\text{ mm ID} \times 0.4\text{ }\mu\text{m}$  film thickness. Analysis was conducted according to the methodology reported by Górska-Horczyzak et al. [55]. Calibration was performed on a standard mixture of C6-C16 alkanes (Restek, ANCHEM Plus, Warsaw, Poland).

## 3.4. Physical Analyses

### 3.4.1. Scanning Electron Microscope (SEM) Analysis

The morphology of the freeze-dried hydrogel emulsion with açai oil capsules was analyzed using a high-resolution, scanning electron microscope JEOL JSM-7500 F, Field Emission Scanning Electron (Akishima, Tokyo, Japan) using the methods described by Nowak et al. [56].

### 3.4.2. Color and pH Analysis

The color was evaluated on grilled and raw burgers after 0 and 7 days of storage. The color measurement was performed on the entire surface, at 5 different locations for one burger. The analysis measurement was performed in two batches. Analysis was performed using a Minolta CR-400 chromameter with a glass cell (10 mm optical path) with the CA-A98 attachment (Konica Minolta Inc., Tokyo, Japan) and D65 illuminant (color temperature: 6500 K), as well as a standard observer (2°) in the CIE  $L^*a^*b^*$  system. The diameter of the measuring head was 8 mm. For calibration, the white standard plate was used ( $L^* = 98.45$ ,  $a^* = -0.10$ ,  $b^* = -0.13$ ). In addition, the total color difference value ( $\Delta E$ ) was calculated according to the formula by Altmann et al. [23]. The pH was measured using a digital pH meter (FiveEasy F20, Mettler Toledo, Greifensee, Switzerland).

### 3.4.3. Texture Profile Analysis (TPA) and Cooking Loss

The texture profile analysis (TPA) of grilled beef burgers after 0 and 7 days of storage at  $4 \pm 1\text{ }^\circ\text{C}$  was performed according to the method described by Hanula et al. [33] in a double compression cycle to the point of 50% reduction of their initial height (relaxation time 3 s). The analysis was performed using an Instron 5965 (Instron, Norwood, MA, USA) testing machine with a 500 (N) load cell connected to Bluehill® 2 software (Norwood, MA, USA). For TPA, we used an Instron S5402A probe (dimensions: 57.32 mm (2.26 in) diameter  $\times$  86 mm (3.39 in) long) with a surface area of 2580.49 mm<sup>2</sup>. The samples had an area of 506.70 mm<sup>2</sup> (25.4 mm diameter (1.00 in)). The parameters such as hardness (N), springiness (-), and cohesiveness (-) were calculated using the method described by Pótorak et al. [57].

Cooking loss analysis was performed after 7 days of burger storage at 4 °C. The cooking loss value was expressed as a percentage and calculated using the following formula:

$$\text{cooking loss \%} = (\text{BR} - \text{BG}) / \text{BR} \times 100$$

BR—raw burger weight after 7 days of storage

BG—grilled burger weight after 7 day of storage

## 3.5. Sensory Evaluation of Grilled Beef Burger

The sensory evaluation of grilled beef burgers was performed using an unstructured linear scale of a 10 cm in length, on a scale from “no intensity” to “very high intensity” [58]. The sensory panel consisted of 11 experienced panelists (5 women and 6 men, aged 31–45 years). Panelists passed the validation process and met the criteria of ISO 11132 [59]. Each trait analyzed was scored three times, and grilled burgers were provided in coded cardboard trays in random order. Each panelist received water to cleanse

the palate between tastings. The analog scale scores obtained were converted to numerical values from 0 to 10 units. Grilled burgers were evaluated on day 0 and after 7 days of storage.

### 3.6. Statistical Analyses

The statistical analyses of reformulated beef burger results were performed using the Statistical Analysis System software version 13.3 (StatSoft, Tulsa, OK, USA). The normality of the data distribution and the homogeneity of variance was previously checked using the Shapiro–Wilk test. A one-way ANOVA followed by the Tukey’s test was applied for the analysis of pH, color, TBARS, fatty acid profile (SFA, MUFA, PUFA), health indicators (h/H, TI, AI), TPA, cooking loss, and consumer evaluation. The level of significance was set at  $\alpha \leq 0.05$ . Moreover, the strengths of the relationships between fatty acid profile (SFA, MUFA, and PUFA), texture parameters (springiness, hardness), cooking loss, pH, color parameters ( $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ), and consumer parameter (appearance, color, flavor, taste, juiciness, texture, overall acceptability) methods were determined using Pearson correlation coefficients. For all analyses, 95% confidence intervals were established. The AlfaSoft package with statistical quality control was used for the evaluation of the chromatographic fingerprint and the comparative analysis of volatile compounds.

## 4. Conclusions

The aim of this study was to analyze the effects of using a freeze-dried hydrogel emulsion with encapsulated açai oil as a fat substitute. SEM analysis showed that the freeze-drying process had no destructive effect on the encapsulated oil. Moreover, the fat replacement had a positive effect on improving the nutritional value of the burger as it reduced SFA and enriched PUFA. Furthermore, the nutritional indices of both the grilled and raw burger were significantly improved. For example, the atherogenicity and thrombogenicity indices were significantly reduced by 0.5 and 1.2, respectively ( $p < 0.05$ ). In contrast, the h/H ratio improved by 2.6. Furthermore, the fat substitute significantly reduced all the texture parameters analyzed (hardness, springiness, cohesiveness). In addition, the freeze-dried hydrogel reduced cooking loss for all variants used. Analysis of the volatile compound profile showed that, after 7 days of storage, the beef fat produced the most ketones, while the change in distances (organoleptic unit) in the raw burger was lowest in S-100% and increased with an increasing proportion of animal fat in the burger. The correlation analysis ( $p < 0.05$ ) showed a high significance between the analyzed parameters and consumer evaluation. Despite the influence of many correlating features on the consumer rating, burgers with fat substitutes S-25%, and S-50% were rated above six points, so the consumer accepted the fat substitute. The study showed that the fat substitute freeze-dried hydrogel with encapsulated açai oil can successfully replace animal fat by up to 50%, improving the health benefits of the beef burger.

**Author Contributions:** M.H., conceptualization, formal analysis, investigation, methodology, supervision, writing—original draft, visualization, writing—review and editing; A.S., formal analysis, investigation, methodology; E.G.-H., formal analysis, methodology; G.K., formal analysis, methodology; E.P.-N., formal analysis, investigation, methodology, supervision, writing—review and editing; A.P.; funding acquisition, supervision, writing—review and editing. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

**Funding:** The research reported in this manuscript has been financed by the Polish Ministry of Science and Higher Education within the fund from the Institute of Human Nutrition Sciences, Warsaw, University of Life Sciences (WULS), for scientific research.

**Institutional Review Board Statement:** Not applicable.

**Informed Consent Statement:** Not applicable.

**Data Availability Statement:** Available from the authors.



**Conflicts of Interest:** The authors declare no conflict of interest. The funders had no role in the design of the study; in the collection, analyses, or interpretation of data; in the writing of the manuscript, or in the decision to publish the results.

**Sample Availability:** Samples of the compounds yes are available from the authors.

## References

- Barros, J.C.; Munekata, P.E.; Carvalho, F.A.L.; Domínguez, R.; Trindade, M.A.; Pateiro, M.; Lorenzo, J.M. Healthy beef burgers: Effect of animal fat replacement by algal and wheat germ oil emulsions. *Meat Sci.* **2021**, *173*, 108396. [CrossRef]
- Heck, R.T.; Saldaña, E.; Lorenzo, J.M.; Correa, L.P.; Fagundes, M.B.; Cichoski, A.J.; Menezes, C.R.; Wagner, R.; Campagnol, P.C.B. Hydrogelled emulsion from chia and linseed oils: A promising strategy to produce low-fat burgers with a healthier lipid profile. *Meat Sci.* **2019**, *156*, 174–182. [CrossRef]
- Barros, J.C.; Munekata, P.E.; de Carvalho, F.A.L.; Pateiro, M.; Barba, F.J.; Domínguez, R.; Trindade, M.A.; Lorenzo, J.M. Use of tiger nut (*Cyperus esculentus* L.) oil emulsion as animal fat replacement in beef burgers. *Foods* **2020**, *9*, 44. [CrossRef]
- Osman, M.F.E.; Mohamed, A.A.; Alamri, M.S.; Ahmed, I.A.M.; Hussain, S.; Ibraheem, M.I.; Qasem, A.A. Quality characteristics of beef patties prepared with octenyl-succinylated (Osan) starch. *Foods* **2021**, *10*, 1157. [CrossRef]
- Bakhsh, A.; Lee, S.J.; Lee, E.Y.; Hwang, Y.H.; Joo, S.T. Characteristics of Beef Patties Substituted by Different Levels of Textured Vegetable Protein and Taste Traits Assessed by Electronic Tongue System. *Foods* **2021**, *10*, 2811. [CrossRef]
- Teixeira, A.; Rodrigues, S. Consumer perceptions towards healthier meat products. *Curr. Opin. Food Sci.* **2021**, *38*, 147–154. [CrossRef]
- Ozturk-Kerimoglu, B.; Urgu-Ozturk, M.; Serdaroglu, M.; Koca, N. Chemical, technological, instrumental, microstructural, oxidative and sensory properties of emulsified sausages formulated with microparticulated whey protein to substitute animal fat. *Meat Sci.* **2022**, *184*, 108672. [CrossRef]
- Essa, R.Y.; Elsebaie, E.M. New fat replacement agent comprised of gelatin and soluble dietary fibers derived from date seed powder in beef burger preparation. *LWT* **2022**, *156*, 113051. [CrossRef]
- Domínguez, R.; Munekata, P.E.; Pateiro, M.; López-Fernández, O.; Lorenzo, J.M. Immobilization of oils using hydrogels as strategy to replace animal fats and improve the healthiness of meat products. *Curr. Opin. Food Sci.* **2021**, *37*, 135–144. [CrossRef]
- Rezvanikhah, A.; Emam-Djomeh, Z.; Askari, G. Encapsulation and delivery of bioactive compounds using spray and freeze-drying techniques: A review. *Dry. Technol.* **2020**, *38*, 235–258. [CrossRef]
- Hanula, M.; Wyrwicz, J.; Moczowska, M.; Horbańczuk, O.K.; Pogorzelska-Nowicka, E.; Wierzbicka, A. Optimization of microwave and ultrasound extraction methods of açai berries in terms of highest content of phenolic compounds and antioxidant activity. *Appl. Sci.* **2020**, *10*, 8325. [CrossRef]
- Jaramillo, J.E.C.C.; Carrillo Bautista, M.P.; Alvarez Solano, O.A.; Achenie, L.E.; González Barrios, A.F. Impact of the mode of extraction on the lipidomic profile of oils obtained from selected Amazonian fruits. *Biomolecules* **2019**, *9*, 329. [CrossRef] [PubMed]
- Rosa, P.; Friedrich, M.L.; Dos Santos, J.; Librelotto, D.R.N.; Maurer, L.H.; Emanuelli, T.; Silva, C.B.; Adams, A.I.H. Desonide nanoencapsulation with açai oil as oil core: Physicochemical characterization, photostability study and in vitro phototoxicity evaluation. *J. Photochem. Photobiol. B Biol.* **2019**, *199*, 111606. [CrossRef] [PubMed]
- Pacheco-Palencia, L.A.; Mertens-Talcott, S.; Talcott, S.T. Chemical composition, antioxidant properties, and thermal stability of a phytochemical enriched oil from Acai (*Euterpe oleracea* Mart.). *J. Agric. Food Chem.* **2008**, *56*, 4631–4636. [CrossRef] [PubMed]
- Hanula, M.; Pogorzelska-Nowicka, E.; Pogorzelski, G.; Szpicer, A.; Wojtasik-Kalinowska, I.; Wierzbicka, A.; Póltorak, A. Active Packaging of Button Mushrooms with Zeolite and Açai Extract as an Innovative Method of Extending Its Shelf Life. *Agriculture* **2021**, *11*, 653. [CrossRef]
- Aleson-Carbonell, L.; Fernández-López, J.; Pérez-Alvarez, J.A.; Kuri, V. Characteristics of beef burger as influenced by various types of lemon albedo. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.* **2005**, *6*, 247–255. [CrossRef]
- Traore, S.; Aubry, L.; Gatellier, P.; Przybylski, W.; Jaworska, D.; Kajak-Siemaszko, K.; Sante-Lhoutellier, V. Higher drip loss is associated with protein oxidation. *Meat Sci.* **2012**, *90*, 917–924. [CrossRef]
- Bastos, S.C.; Pimenta, M.E.S.; Pimenta, C.J.; Reis, T.A.; Nunes, C.A.; Pinheiro, A.C.M.; Fabricio, L.F.F.; Leal, R.S. Alternative fat substitutes for beef burger: Technological and sensory characteristics. *J. Food Sci. Technol.* **2014**, *51*, 2046–2053. [CrossRef]
- Ferreira, N.S.O.; Rosset, M.; Lima, G.; Campelo, P.M.S.; Macedo, R.E.F. Effect of adding *Brosimum gaudichaudii* and *Pyrostegia venusta* hydroalcoholic extracts on the oxidative stability of beef burgers. *LWT* **2019**, *108*, 145–152. [CrossRef]
- Wang, W.; Dong, L.; Zhang, Y.; Yu, H.; Wang, S. Reduction of the Heterocyclic Amines in Grilled Beef Patties through the Combination of Thermal Food Processing Techniques without Destroying the Grilling Quality Characteristics. *Foods* **2021**, *10*, 1490. [CrossRef]
- Warren, K.E.; Hunt, M.C.; Kropf, D.H. Myoglobin oxidative state affects internal cooked color development in ground beef patties. *J. Food Sci.* **1996**, *61*, 513–516. [CrossRef]
- Bertolo, A.P.; Kempka, A.P.; Rigo, E.; Sehn, G.A.R.; Cavalheiro, D. Incorporation of natural and mechanically ruptured brewing yeast cells in beef burger to replace textured soy protein. *J. Food Sci. Technol.* **2022**, *59*, 935–943. [CrossRef] [PubMed]

23. Altmann, B.A.; Gertheiss, J.; Tomasevic, I.; Engelkes, C.; Glaesener, T.; Meyer, J.; Schäfer, A.; Wiesen, R.; Mörlein, D. Human perception of color differences using computer vision system measurements of raw pork loin. *Meat Sci.* **2022**, *188*, 108766. [CrossRef] [PubMed]
24. Sharaf, A.M.; Ebrahimi, M.E.; Ammar, M.S.; Abd El-Ghany, M.E. Influence of using moringa meal flour as meat extender on quality characteristics of beef burger patties during frozen storage. *World J. Dairy Food Sci.* **2009**, *4*, 32–40.
25. Soares, K.S.; Souza, M.P.; Silva-Filho, E.C.; Barud, H.S.; Ribeiro, C.A.; Santos, D.D.; Rocha, K.N.S.; Moura, J.F.P.; Oliveira, R.L.; Bezerra, L.R. Effect of Edible Onion (*Allium cepa* L.) Film on Quality, Sensory Properties and Shelf Life of Beef Burger Patties. *Molecules* **2021**, *26*, 7202. [CrossRef]
26. Oroszvári, B.K.; Bayod, E.; Sjöholm, I.; Tornberg, E. The mechanisms controlling heat and mass transfer on frying of beefburgers. III. Mass transfer evolution during frying. *J. Food Eng.* **2006**, *76*, 169–178. [CrossRef]
27. Moghtadaei, M.; Soltanizadeh, N.; Goli, S.A.H.; Sharifimehr, S. Physicochemical properties of beef burger after partial incorporation of ethylcellulose oleogel instead of animal fat. *J. Food Sci. Technol.* **2021**, *58*, 4775–4784. [CrossRef]
28. Zetzl, A.K.; Marangoni, A.G.; Barbut, S. Mechanical properties of ethylcellulose oleogels and their potential for saturated fat reduction in frankfurters. *Food Funct.* **2012**, *3*, 327–337. [CrossRef]
29. Paglarini, C.S.; Martini, S.; Pollonio, M.A.R. Using emulsion gels made with sonicated soy protein isolate dispersions to replace fat in frankfurters. *LWT* **2019**, *99*, 453–459. [CrossRef]
30. Foggiano, D.; Domínguez, R.; Pateiro, M.; Cittadini, A.; Munekata, P.E.; Campagnol, P.C.; Fraqueza, M.J.; Palo, P.; Lorenzo, J.M. Use of Healthy Emulsion Hydrogels to Improve the Quality of Pork Burgers. *Foods* **2022**, *11*, 596. [CrossRef]
31. Alejandro, M.; Astiasarán, I.; Ansorena, D.; Barbut, S. Using canola oil hydrogels and organogels to reduce saturated animal fat in meat batters. *Food Res. Int.* **2019**, *122*, 129–136. [CrossRef] [PubMed]
32. Keenan, D.F.; Resconi, V.C.; Smyth, T.J.; Botinestean, C.; Lefranc, C.; Kerry, J.P.; Hamill, R.M. The effect of partial-fat substitutions with encapsulated and unencapsulated fish oils on the technological and eating quality of beef burgers over storage. *Meat Sci.* **2015**, *107*, 75–85. [CrossRef] [PubMed]
33. Hanula, M.; Szpicer, A.; Górka-Horczyczak, E.; Khachatryan, G.; Pogorzelski, G.; Pogorzelska-Nowicka, E.; Poltorak, A. Hydrogel Emulsion with Encapsulated Safflower Oil Enriched with Açaí Extract as a Novel Fat Substitute in Beef Burgers Subjected to Storage in Cold Conditions. *Molecules* **2022**, *27*, 2397. [CrossRef] [PubMed]
34. Domínguez, R.; Pateiro, M.; Gagaoua, M.; Barba, F.J.; Zhang, W.; Lorenzo, J.M. A comprehensive review on lipid oxidation in meat and meat products. *Antioxidants* **2019**, *8*, 429. [CrossRef] [PubMed]
35. Lorenzo, J.M.; Pateiro, M. Influence of fat content on Physico-chemical and oxidative stability of foal liver pâté. *Meat Sci.* **2013**, *95*, 330–335. [CrossRef] [PubMed]
36. Fonseca, S.; Gómez, M.; Domínguez, R.; Lorenzo, J.M. Physicochemical and sensory properties of Celta dry-ripened “salchichón” as affected by fat content. *Grasas Aceites* **2015**, *66*, e059.
37. Hautrive, T.P.; Piccolo, J.; Rodrigues, A.S.; Campagnol, P.C.B.; Kubota, E.H. Effect of fat replacement by chitosan and golden flaxseed flour (wholemeal and defatted) on the quality of hamburgers. *LWT—Food Sci. Technol.* **2019**, *102*, 403–410. [CrossRef]
38. Amoli, P.I.; Hadidi, M.; Hasiri, Z.; Rouhafza, A.; Jelyani, A.Z.; Hadian, Z.; Khaneghah, A.M.; Lorenzo, J.M. Incorporation of low molecular weight chitosan in a low-fat beef burger: Assessment of technological quality and oxidative stability. *Foods* **2021**, *10*, 1959. [CrossRef]
39. Ladikos, D.; Lougovois, V. Lipid oxidation in muscle foods: A review. *Food Chem.* **1990**, *35*, 295–314. [CrossRef]
40. Wojtasik-Kalinowska, I.; Marcinkowska-Lesiak, M.; Onopiuk, A.; Stelmasiak, A.; Szpicer, A.; Holc, D.; Wierzbicka, A.; Poltorak, A. Geese fillets flavor stability and quality characteristics at different stages of sous-vide cooking. *Anim. Sci. Pap. Rep.* **2021**, *39*, 419–435.
41. Narsaiah, K.; Biswas, A.K.; Mandal, P.K. Nondestructive methods for carcass and meat quality evaluation. In *Meat Quality Analysis*; Academic Press: Cambridge, MA, USA, 2020; pp. 37–49. [CrossRef]
42. Selani, M.M.; Shirado, G.A.; Margiotta, G.B.; Rasera, M.L.; Marabesi, A.C.; Piedade, S.M.; Contreras-Castillo, C.J.; Canniatti-Brazaca, S.G. Pineapple by-product and canola oil as partial fat replacers in low-fat beef burger: Effects on oxidative stability, cholesterol content and fatty acid profile. *Meat Sci.* **2016**, *115*, 9–15. [CrossRef] [PubMed]
43. USDA. 2015–2020 Dietary Guidelines for Americans; USDA: Washington, DC, USA, 2015.
44. FAO. Fat and fatty acid requirements for adults. In *Fats and Fatty Acids in Human Nutrition*; FAO: Rome, Italy, 2010; Volume 91.
45. EFSA Dietary Reference Values for nutrients Summary report. *EFSA Support. Publ.* **2017**, *14*, e15121E.
46. Ulbricht, T.L.V.; Southgate, D.A.T. Coronary heart disease: Seven dietary factors. *Lancet* **1991**, *338*, 985–992. [CrossRef]
47. Carvalho, F.A.L.; Pateiro, M.; Domínguez, R.; Barba-Orellana, S.; Mattar, J.; Rimac Brčić, S.; Barba, F.J.; Lorenzo, J.M. Replacement of meat by spinach on physicochemical and nutritional properties of chicken burgers. *J. Food Process. Preserv.* **2019**, *43*, e13935. [CrossRef]
48. Wojtasik-Kalinowska, I.; Górka-Horczyczak, E.; Stelmasiak, A.; Marcinkowska-Lesiak, M.; Onopiuk, A.; Wierzbicka, A.; Poltorak, A. Effect of Temperature and Oxygen Dose During Rendering of Goose Fat to Promote Fatty Acid Profiles. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* **2021**, *123*, 2100085. [CrossRef]
49. Rodríguez-Carpena, J.G.; Morcuende, D.A.V.I.D.; Estévez, M.A.R.I.O. Avocado, sunflower and olive oils as replacers of pork back-fat in burger patties: Effect on lipid composition, oxidative stability and quality traits. *Meat Sci.* **2012**, *90*, 106–115. [CrossRef]



50. Liu, J.; Chriki, S.; Ellies-Oury, M.-P.; Legrand, I.; Pogorzelski, G.; Wierzbicki, J.; Farmer, L.; Troy, D.; Polkinghorne, R.; Hocquette, J. European conformation and fat scores of bovine carcasses are not good indicators of marbling. *Meat Sci.* **2020**, *170*, 108233. [CrossRef]
51. Brodowska, M.; Guzek, D.; Kolota, A.; Głabska, D.; Górską-Horczyczak, E.; Wojtasik-Kalinowska, I.; Wierzbicka, A. Effect of diet on oxidation and profile of volatile compounds of pork after freezing storage. *J. Food Nutr. Res.* **2016**, *55*, 40–47.
52. Wojtasik-Kalinowska, I.; Guzek, D.; Brodowska, M.; Godziszewska, J.; Górską-Horczyczak, E.; Pogorzelska-Nowicka, E.; Sakowska, A.; Gantner, M.; Wierzbicka, A. The effect of addition of *Nigella sativa* L. oil on the quality and shelf life of pork patties. *J. Food Process. Preserv.* **2017**, *41*, e13294. [CrossRef]
53. Heck, R.T.; Vendruscolo, R.G.; Etchepare, M.D.A.; Cichoski, A.J.; Menezes, C.R.; Barin, J.S.; Lorenzo, J.M.; Wagner, R.; Campagnol, P.C.B. Is it possible to produce a low-fat burger with a healthy n – 6/n – 3 PUFA ratio without affecting the technological and sensory properties? *Meat Sci.* **2017**, *130*, 16–25. [CrossRef]
54. Fernández, M.; Ordóñez, J.A.; Cambero, I.; Santos, C.; Pin, C.; de la Hoz, L. Fatty acid compositions of selected varieties of Spanish dry ham related to their nutritional implications. *Food Chem.* **2007**, *101*, 107–112. [CrossRef]
55. Górską-Horczyczak, E.; Wojtasik-Kalinowska, I.; Wierzbicka, A. Supplemental linseed oil and antioxidants affect fatty acid composition, oxidation and colour stability of frozen pork. *S. Afr. J. Anim. Sci.* **2020**, *50*, 253–263. [CrossRef]
56. Nowak, N.; Grzebieniarsz, W.; Khachatryan, G.; Khachatryan, K.; Konieczna-Molenda, A.; Krzan, M.; Grzyb, J. Synthesis of Silver and Gold Nanoparticles in Sodium Alginate Matrix Enriched with Graphene Oxide and Investigation of Properties of the Obtained Thin Films. *Appl. Sci.* **2021**, *11*, 3857. [CrossRef]
57. Półtorak, A.; Wyrwisz, J.; Moczowska, M.; Marcinkowska-Lesiak, M. The impact of the aging process on the components of texture of beef from different production systems. *Postępy Tech. Przetw. Spoż.* **2014**, *2*, 112–119.
58. Antoniewska, A.; Rutkowska, J.; Pineda, M.M.; Adamska, A. Antioxidative, nutritional and sensory properties of muffins with buckwheat flakes and amaranth flour blend partially substituting for wheat flour. *LWT* **2018**, *89*, 217–223. [CrossRef]
59. Djekic, I.; Lorenzo, J.M.; Munekata, P.E.; Gagaoua, M.; Tomasevic, I. Review on characteristics of trained sensory panels in food science. *J. Texture Stud.* **2021**, *52*, 501–509. [CrossRef]

Załącznik nr 9

Warszawa, 14.06.2022r.

Monika Hanula  
monika\_hanula@sggw.edu.pl

**Rada Dyscypliny Technologia  
Żywności i Żywienia**

**Szkoły Głównej Gospodarstwa  
Wiejskiego w Warszawie**

#### **Oświadczenie o współautorstwie**

Niniejszym oświadczam, że w pracy Hanula, M.; Szpicer, A.; Górską-Horczyzak, E.; Khachatryan, G.; Pogorzelska-Nowicka, E.; Półtorak, A., 2022, Quality of Beef Burgers Formulated with Fat Substitute in a Form of Freeze-Dried Hydrogel Enriched with Açai Oil, Molecules, 27, 3700, 1-20, mój indywidualny udział w jej powstaniu wynosił 75% i polegał na: współudziale opracowania koncepcji badań i metodyk (liofilizowanej hydrożelowej emulsji z kapsulkowanym olejem, analizie oksydacji lipidów, analizie profilu związków lotnych, profilu kwasów tłuszczowych, analizie tekstury), współudziale w prowadzeniu badań (tekstury, barwy, pH, oksydacji tłuszczu, profilu związków lotnych, profilu kwasów tłuszczowych, analizie sensorycznej), nadzorze nad prowadzeniem badań i przebiegiem doświadczenia, przeprowadzenie analizy statystycznej wyników, przygotowaniu manuskryptu oraz udzieleniu odpowiedzi recenzentom (byłam autorem korespondencyjnym).



Podpis

Warszawa, 14.06.2022r.

Arkadiusz Szpicer  
arkadiusz\_szpicer@sggw.edu.pl

**Rada Dyscypliny Technologia  
Żywności i Żywienia  
Szkoły Głównej Gospodarstwa  
Wiejskiego w Warszawie**

#### **Oświadczenie o współautorstwie**

Niniejszym oświadczam, że w pracy Hanula, M.; Szpicer, A.; Górską-Horczyczak, E.; Khachatryan, G.; Pogorzelska-Nowicka, E.; Półtorak, A., 2022, Quality of Beef Burgers Formulated with Fat Substitute in a Form of Freeze-Dried Hydrogel Enriched with Açai Oil, Molecules, 27, 3700, 1-20, mój indywidualny udział w jej powstaniu polegał na: współudział w prowadzeniu badań (barwa, pH, tekstura) współudział w edycji manuskryptu.



Podpis

Załącznik nr 9

Warszawa, 14.06.2022r.

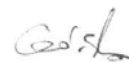
Elżbieta Górską-Horczyczak  
elzbieta\_gorska\_horczyczak@sggw.edu.pl

**Rada Dyscypliny Technologia  
Żywności i Żywnienia**

**Szkoły Głównej Gospodarstwa  
Wiejskiego w Warszawie**

#### **Oświadczenie o współautorstwie**

Niniejszym oświadczam, że w pracy Hanula, M.; Szpicer, A.; Górską-Horczyczak, E.; Khachatryan, G.; Pogorzelska-Nowicka, E.; Półtorak, A., 2022, Quality of Beef Burgers Formulated with Fat Substitute in a Form of Freeze-Dried Hydrogel Enriched with Açai Oil, Molecules, 27, 3700, 1-20, mój indywidualny udział w jej powstaniu polegał na: współudział w przeprowadzeniu analizy związków lotnych.



Podpis

Warszawa, 14.06.2022r.

Gohar Khachatryan

gohar.khachatryan@urk.edu.pl

**Rada Dyscypliny Technologia  
Żywności i Żywienia**

**Szkoły Głównej Gospodarstwa  
Wiejskiego w Warszawie**

**Oświadczenie o współautorstwie**

Niniejszym oświadczam, że w pracy Hanula, M.; Szpicer, A.; Górską-Horezyczak, E.; Khachatryan, G.; Pogorzelska-Nowicka, E.; Półtorak, A., 2022, Quality of Beef Burgers Formulated with Fat Substitute in a Form of Freeze-Dried Hydrogel Enriched with Açai Oil, Molecules, 27, 3700, 1-20, mój indywidualny udział w jej powstaniu polegał na: przeprowadzeniu analizy analiza za pomocą skaningowego mikroskopu elektronowego (SEM).



Podpis

Warszawa, 14.06.2022r.

Ewelina Pogorzelska-Nowicka

ewelina\_pogorzelska\_nowicka@sggw.edu.pl

**Rada Dyscypliny Technologia  
Żywności i Żywienia  
Szkoły Głównej Gospodarstwa  
Wiejskiego w Warszawie**

**Oświadczenie o współautorstwie**

Niniejszym oświadczam, że w pracy Hanula, M.; Szpicer, A.; Górską-Horczyczak, E.; Khachatryan, G.; Pogorzelska-Nowicka, E.; Półtorak, A., 2022, Quality of Beef Burgers Formulated with Fat Substitute in a Form of Freeze-Dried Hydrogel Enriched with Açai Oil, Molecules, 27, 3700, 1-20, mój indywidualny udział w jej powstaniu polegał na: współudział w przeprowadzeniu analiz chemicznych, współudział w edycji manuskryptu.

Podpis

*Ewelina Pogorzelska-Nowicka*

Warszawa, 14.06.2022r.

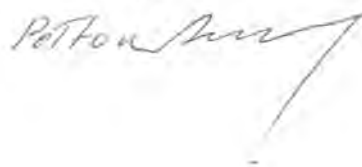
Andrzej Półtorak  
Andrzej\_poltorak@sggw.edu.pl

**Rada Dyscypliny Technologia  
Żywności i Żywienia  
Szkoły Głównej Gospodarstwa  
Wiejskiego w Warszawie**

**Oświadczenie o współautorstwie**

Niniejszym oświadczam, że w pracy Hanula, M.; Szpicer, A.; Górską-Horczyczak, E.; Khachatryan, G.; Pogorzelska-Nowicka, E.; Półtorak, A., 2022, Quality of Beef Burgers Formulated with Fat Substitute in a Form of Freeze-Dried Hydrogel Enriched with Açai Oil, Molecules, 27, 3700, 1-20, mój indywidualny udział w jej powstaniu polegał na: współudziale w opracowaniu koncepcji badań, nadzorowaniu realizowanych prac, współudziale w przygotowaniu manuskryptu, pozyskanie środków finansowych na realizację badań.

Podpis







Wyrażam zgodę na udostępnianie mojej pracy w czytelniach Biblioteki SGGW.

.....

*(czytelny podpis autora)*