



**POLITECHNIKA  
BYDGOSKA**  
im. Jana i Jędrzeja Śniadeckich

**RADA NAUKOWA DISCYPLINY ROLNICTWO I OGRODNICTWO**

**ROZPRAWA DOKTORSKA**

**w formie zbioru opublikowanych i powiązanych tematycznie artykułów  
naukowych w dyscyplinie rolnictwo i ogrodnictwo**

**mgr inż. Krystian Ambroziak**

**Wpływ wybranych praktyk agrotechnicznych na plonowanie i jakość  
nasion konopi siewnych i soi przeznaczonych do przetwórstwa  
spożywczego i przemysłowego.**

***The influence of selected agrotechnical practices on the yield  
and quality of hemp and soybean seeds intended for food  
and industrial processing.***

DZIEDZINA: Nauki rolnicze  
DISCYPLINA: Rolnictwo i Ogrodnictwo

**PROMOTOR**

PROF. DR HAB. INŻ. ANNA WENDA-PIESIK  
KATEDRA AGRONOMII I PRZETWÓRSTWA ŻYWNOŚCI  
WYDZIAŁ ROLNICTWA I BIOTECHNOLOGII  
POLITECHNIKA BYDGOSKA IM. J. I J. ŚNIADECKICH

## **Źródło finansowania**

Doktorat wdrożeniowy DWD/5/0047/2021

## SPIS TREŚCI

1. WSTĘP .....	5
2. WYKAZ ARTYKUŁÓW NAUKOWYCH STANOWIĄCYCH CYKL PUBLIKACJI ROZPRAWY DOKTORSKIEJ .....	7
3. UZASADNIENIE SPÓJNOŚCI TEMATYCZNEJ CYKLU PUBLIKACJI ROZPRAWY .....	8
3.1. Hipoteza badawcza, cel i zakres badań .....	9
3.2. Materiały i metody badań .....	10
3.3. Wyniki i Dyskusja.....	15
3.4. Podsumowanie .....	36
3.5. Wnioski .....	36
4. LITERATURA .....	38
5. STRESZCZENIE .....	43
6. ABSTRACT .....	45
7. ZAŁĄCZNIKI	
Kopie artykułów naukowych stanowiących cykl publikacji rozprawy doktorskiej .....	47
Oświadczenie Autora rozprawy doktorskiej .....	119
Oświadczenia Współautorów artykułów naukowych .....	121



# 1. WSTĘP

Wyniki niniejszej pracy dowodzą, że rośliny oleiste takie jak soja i konopie mogą być z powodzeniem uprawiane w Polsce i przetwarzane na cele konsumpcyjne oraz paszowe. Przedmiotem pracy była zarówno poprawa ogniw agrotechnicznych wymienionych gatunków, jak również sposób przetworzenia plonu nasion, tak, aby produkty główne tj. olej czy poboczne tj. makuch stanowiły cenne uzupełnienie między innymi ludzkiej diety. Hipoteza badawcza zakładała, że ekologizacja sposobu uprawy tych gatunków nie wpływa negatywnie na ilość i jakość osiąganego plonu nasion. W części agrotechnicznej osiągnięto wyznaczone cele: 1. Usprawnienie technologii zbioru mechanicznego niskich odmian konopi jednopiennych. 2. Samoregulację zachwaszczenia konopi poprzez wzrost zagęszczenia ładu. 3. Ograniczenie zabiegów herbicydowych w soi za pomocą pielenia mechanicznego. 4. Zwiększenie ilości zbieranego plonu soi przy zastosowaniu hederu z kosą pływającą, kopiującą podłoże pola. W części dotyczącej przetwórstwa nasion osiągnięto wyznaczone cele: 1. Rozpoznanie i porównanie właściwości spożywczych produktów konopnych tj. oleju zimno tłoczonego i makuchu konopnego pochodzących z surowca obłuszczonego i nieobłuszczonego. 2. Rozpoznanie i porównanie właściwości spożywczych produktów sojowych tj. oleju zimno tłoczonego, ekspandowanego makuchu sojowego i pełnotłustej soi pochodzących z surowca w opracowanej technologii uprawy.

W dostępnej literaturze przedmiotu brak jest jasnych wytycznych co do zbioru jednoetapowego konopi siewnych kombajnem zbożowym. Wynikiem doświadczeń polowych jest innowacyjna technologia – sposób (know-how) uprawy i zbioru zarówno konopi jednopiennych niskiej oraz konwencjonalnej, nGM soi w systemie proekologicznym. Kolejnym wynikiem prac badawczych są produkty-wytwory pochodzące z przetwórstwa surowców roślinnych wytworzonych we wspomnianych technologiach przeznaczone do spożycia przez ludzi i zwierzęta. Omawiane w pracy gatunki są roślinami zakwalifikowanymi jako małoobszarowe, dla których trudno jest uzyskać jednoznaczne rekomendacje co do uprawy i ochrony herbicydowej. Polskie rolnictwo jest nie tylko ubogie w produkcję białka pochodzącego z soi, ale i uwstecznione w produkcji białka konopnego, którego może być liderem na skalę europejską. Dostępność zdywersyfikowanych źródeł białka roślinnego pochodzącego z plantacji zrównoważonych jest wymagana przez nowo obserwowany trend konsumencki. Sprzyja mu również nowa strategia Wspólnej Polityki Rolnej od pola do stołu. Ze względu na ograniczenia technologiczne w uprawie gatunków soi i konopi należało dokonać modyfikacji ogniw agrotechnicznych tak, aby była ona łatwiejsza, bardziej ergonomiczna i zachęcająca innych plantatorów do uprawy tych wartościowych gatunków. Zarówno soja jak i konopie są gatunkami ekologiczującymi płodozmian. Nie wymagają nadmiernego nawożenia azotowego, pozostawiają po sobie dobre stanowisko dla roślin następczych jak również dobrze znoszą uprawę w monokulturze. Dzięki temu są dobrymi roślinami do przeprowadzenia konwersji w kierunku rolnictwa ekologicznego. Wzrost areálu upraw ekologicznych jest kolejnym z postulatów WPR i powinien wynieść przynajmniej 25% użytków rolnych jak donosi Plan Strategiczny na lata 2023-2027. W najbliższym czasie polscy rolnicy będą zatem potrzebowali gotowych rozwiązań na poprawę zarówno bilansu białkowego w strukturze ich produkcji jak i wiedzy na temat prowadzenia plantacji w sposób zrównoważony a wręcz ekologiczny niosący ze sobą zminimalizowany lub wręcz ujemny ślad węglowy dla uzyskanego plonu. Dlatego przedmiotem badań objęte zostały gatunki o wysokim potencjale spełnienia oczekiwań zarówno Wspólnej Polityki Rolnej jak i wymagań konsumenckich.

Istotnym uzasadnieniem podjęcia problematyki badawczej jest znaczenie omawianych gatunków dla strategii Europejskiego Zielonego Ładu, którego założeniem jest ograniczenie chemizacji rolnictwa oraz promowanie lokalnych źródeł białka roślinnego. Aktualnie zaledwie 2% globalnej produkcji soi przeznaczana się na cele spożywcze [Goldsmith 2008], podczas gdy jej

unikalny skład chemiczny – 18–22% tłuszczu i 33–35% białka o wysokiej zawartości aminokwasów egzogennych – czyni ją surowcem szczególnie wartościowym żywieniowo. Spożycie 50 g produktów sojowych może odpowiadać spożyciu białka zawartego w 150 g mięsa wołowego. Według zaleceń [Cordle 2004] [Hartman et al. 2011] dzienna porcja 25 g białka sojowego wpływa korzystnie na zdrowie metaboliczne.

W podobny sposób postrzegane są konopie jednopiennie jako surowiec wielofunkcyjny, z którego otrzymuje się nasiona, olej, makuch i mąkę o wysokiej wartości użytkowej. Oba gatunki charakteryzują się właściwościami ekologizującymi – nie wymagają nadmiernego nawożenia azotowego, poprawiają strukturę gleby i są doskonałymi roślinami do przeprowadzenia konwersji w kierunku rolnictwa ekologicznego.

Badania prowadzono we współpracy z Zakładem Uszlachetniania Białka Roślinnego (ZUBR Agrolok, Osiek), który wdraża innowacyjne komponenty paszowe i obserwuje potencjał produktów spożywczych opartych na krajowym białku roślinnym. Przedsięwzięcie ma wymiar praktyczny i gospodarczy – jego celem jest zwiększenie podaży surowca oraz wprowadzenie makuchów i olejów roślinnych (w tym konopnych) do przemysłowej produkcji żywności. Wdrożenie obejmuje zarówno opracowaną technologię agrotechniczną, jak i komponenty końcowe, co odpowiada na rosnące potrzeby rynku krajowego i europejskiego w zakresie dostępności alternatywnych źródeł białka.

## 2. WYKAZ ARTYKUŁÓW NAUKOWYCH STANOWIĄCYCH CYKL PUBLIKACJI ROZPRAWY DOKTORSKIEJ

1. Wenda-Piesik, A.; Ambroziak, K. The Choice of Soybean Cultivar Alters the Underyielding of Protein and Oil under Drought Conditions in Central Poland. *Applied Sciences* 2022, 12, 7830, <https://doi.org/10.3390/app12157830>, pkt. MNiSW 100, *Impact Factor* 2.838
2. Ambroziak, K., Wenda-Piesik, A. and Kozera, W. Regulating the plant density influences to the weed infestation, productivity and chemical composition of seeds of true hemp *Cannabis sativa* L. *Journal of Elementology* 2023, 28(3), 619-631, <https://doi.org/10.5601/jelem.2023.28.3.2425>, pkt. MniSW 140, *Impact Factor* 0.923
3. Ambroziak, K.; Wenda-Piesik, A. Comparative Characterization of Hemp Seed Cakes from Dehulled and Hulled *Cannabis sativa* L. var. oleifera cv. 'Henola': Nutritional, Functional and Storage Stability Insights. *Foods* 2025, 14, 1605, <https://doi.org/10.3390/foods14091605>, pkt. MniSW 100, *Impact Factor* 5,1
4. Ambroziak, K.; Wenda-Piesik, A. Dual Production of Full-Fat Soy and Expanded Soybean Cake from Non-GMO Soybeans: Agronomic and Nutritional Insights Under Semi-Organic Cultivation. *Appl. Sci.* 2025, 15(15), 8154 <https://doi.org/10.3390/app15158154>, pkt. MniSW 100, *Impact Factor* 2,7
5. Wenda-Piesik, A.; Ambroziak, K. Weed Suppression and Yield Stability of Oilseed Hemp (*Cannabis sativa* L. cv. 'Henola') During Conversion from Conventional to Organic Farming. *Industrial Crops and Products*, 2025, w recenzji.

### 3. UZASADNIENIE SPÓJNOŚCI TEMATYCZNEJ CYKLU PUBLIKACJI ROZPRAWY DOKTORSKIEJ

Pierwszy artykuł – *The Choice of Soybean Cultivar Alters the Underyielding of Protein and Oil under Drought Conditions in Central Poland* (Wenda-Piesik, Ambroziak, 2022) – dotyczy plonowania i jakości soi w warunkach stresu wodnego w Polsce Centralnej. Autorzy analizują wpływ doboru odmian na zawartość białka i tłuszczu w nasionach przy zastosowaniu systemów orkowego i bezorkowego. Wyniki te są istotne z punktu widzenia adaptacji uprawy soi do zmieniających się warunków klimatycznych oraz doboru strategii agrotechnicznych umożliwiających stabilizację plonów i jakości surowca. Na podstawie uzyskanych danych wybrano lokalizację doświadczeń oraz odmianę soi zwyczajnej ‘Abaca’, która została przeznaczona do pogłębionych badań nad monokulturą soi uprawianej w proekologicznym systemie orkowym. Wyniki badań z lat 2021–2024 stanowią integralny element rozprawy doktorskiej, spójny z Indywidualnym Planem Badawczym doktoranta.

Drugi artykuł – *Regulating the Plant Density Influences the Weed Infestation, Productivity and Chemical Composition of Seeds of True Hemp Cannabis sativa L.* (Ambroziak, Wenda-Piesik, Kozera, 2023) – prezentuje wyniki badań dotyczących wpływu gęstości siewu oraz stosowania herbicydu na zachwaszczenie, parametry wzrostu i skład chemiczny nasion konopi siewnych. Wskazuje on na istotną rolę regulacji obsady w efektywnym ograniczaniu presji chwastów oraz poprawie jakości plonu, co wpisuje się w zagadnienia związane z optymalizacją technologii uprawy roślin oleistych dla przemysłu spożywczego. Uzyskane wyniki posłużyły do zaplanowania czteroletniego doświadczenia z monokulturą wybranej odmiany konopi siewnej ‘Henola’. Wyniki te stanowią jedną z głównych osi badawczych niniejszej dysertacji.

Trzeci artykuł – *Comparative Characterization of Hemp Seed Cakes from Dehulled and Hulled Cannabis sativa L. var. oleifera cv. ‘Henola’: Nutritional, Functional and Storage Stability Insights* (Ambroziak, Wenda-Piesik, 2025) – obejmuje ocenę wartości odżywczej, właściwości funkcjonalnych oraz trwałości przechowalniczej oleju i makuchów konopnych. Analizie poddano produkty otrzymane z nasion konopi siewnych ‘Henola’ w dwóch wariantach przetwarzania: z łuską oraz po obłuszczeniu. Badania te są elementem szerszego cyklu eksperymentalnego dotyczącego wykorzystania pełnotłustych oraz tłoczonych produktów z konopi siewnych jako potencjalnych składników paszowych i spożywczych. Praca ta rozwija wątki związane z przetwarzaniem surowców roślinnych w kierunku żywieniowym, w tym zagadnienia związane z ich jakością sensoryczną, stabilnością oksydacyjną oraz zawartością substancji antyodżywczych.

Czwarta publikacja – *Dual Production of Full-Fat Soy and Expanded Soybean Cake from Non-GMO Soybeans: Agronomic and Nutritional Insights Under Semi-Organic Cultivation* (Ambroziak, Wenda-Piesik, 2025) – koncentruje się na ocenie wpływu ekspandowania oraz mechanicznego tłoczenia pełnotłustej soi na skład chemiczny i funkcjonalność produktów. Artykuł zawiera analizę białka, tłuszczu, składników antyodżywczych oraz stabilności oksydacyjnej i mikrobiologicznej produktów otrzymywanych z soi odmiany ‘Abaca’. Jest to rozszerzenie badań zapoczątkowanych w pierwszym artykule i dopełnienie aspektów zarówno zadań badawczych związanych z agrotechniką, jak i możliwości przetwórczych analizowanych surowców.

Wszystkie cztery publikacje tworzą spójny cykl badawczy, obejmujący zarówno aspekty produkcyjne, jak i przetwórcze związane z uprawą soi i konopi siewnych. Zawarte w nich dane faktyczne są wzajemnie powiązane poprzez wspólne założenia eksperymentalne, jednolitą metodologię doświadczalnictwa polowego, normatywną laboratoryjną analitykę dla komponentów żywności oraz zbieżność celów badawczych ukierunkowanych na zwiększenie samowystarczalności białkowej w oparciu o krajowe źródła roślinne. Zestawienie wyników z różnych etapów

produkcji – od pola do produktu końcowego – umożliwi kompleksową ocenę wartości użytkowej tych roślin w kontekście aktualnych wyzwań klimatycznych, ekonomicznych i technologicznych.

### 3.1. HIPOTEZA BADAWCZA I CELE BADAŃ

**Główną hipotezą badawczą** jest założenie, że rośliny oleiste takie jak soja (*Glycine max* (L.) Merrill) niemodyfikowana genetycznie (nGMO) oraz konopie siewne (*Cannabis sativa* L.) mogą być z powodzeniem uprawiane w warunkach klimatycznych Polski w celu pozyskania wysokiej jakości surowca spożywczego. Hipoteza ta opiera się na założeniu, że odpowiednio dobrane praktyki agrotechniczne, zmierzające do ekologizacji tych upraw, oraz technologie przetwórcze umożliwią uzyskanie komponentów odżywczych o wysokiej strawności i stabilności, bez negatywnego wpływu na środowisko naturalne.

#### **W badaniach przyjęto hipotezy szczegółowe:**

- i) Postęp w hodowli odmian soi (*Glycine max* (L.) Merrill), uwzględniający przystosowanie do warunków agroklimatycznych Polski centralnej, pozwala uzyskać istotne efekty plonotwórcze i jakościowe (zawartość białka i oleju) zarówno w systemie uprawy płuźnej, jak i bezorkowej, przy jednoczesnym ograniczeniu negatywnego wpływu suszy.
- ii) Rozwój wegetatywny soi ‘Abaca’ i konopi siewnych ‘Henola’, wydajność ich nasion wraz z elementami struktury plonu oraz zawartości makro- i mikroelementów w nasionach podlegają optymalizacji po zastosowaniu technologii zbioru jednoetapowego z wykorzystaniem kosy typu flex w soi i kombajnu zbożowego klawiszowego dla konopi siewnych.
- iii) Zwiększenie gęstości siewu konopi siewnych (*Cannabis sativa* L.) oraz ograniczenie stosowania lub częściowa rezygnacja z herbicydów i zastosowanie mechanicznego odchwaszczania w soi (*Glycine max* (L.) Merrill) istotnie wpływają na ograniczenie zachwaszczenia plantacji.
- iv) Przetwarzanie nasion konopi siewnych poprzez łuskanie i warunki tłoczenia na zimno istotnie wpływa na wartość odżywczą, profil funkcjonalny, zawartość czynników antyżywnościowych, stabilność oksydacyjną oraz mikrobiologiczne bezpieczeństwo makuchów, determinując ich przydatność jako surowca do żywności funkcjonalnej i pasz wysokobiałkowych w czasie przechowywania.
- v) Barotermiczne przetwarzanie nasion soi pozwala uzyskać stabilne, wartościowe pod względem odżywczym składniki sojowe zarówno pełnotłuste jak i odtłuszczone, które będą odpowiednie do zastosowań w cyrkularnych systemach żywności i pasz zgodnych z założeniami Europejskiego Zielonego Ładu.
- vi) Połączenie uprawy soi w systemie proekologicznym (z mechaniczną regulacją zachwaszczenia) oraz ekologicznej uprawy konopi może stanowić ważny człon zmianowania w uprawie i pozwoli uzyskać stabilne, wartościowe pod względem odżywczym składniki sojowe i konopne, odpowiednie do cyrkularnych systemów żywnościowych i paszowych, zgodnych z priorytetami Europejskiego Zielonego Ładu.

#### **Realizacji hipotez towarzyszyły następujące cele naukowe:**

1. Określenie wpływu długości okresu wegetacji oraz wskaźnika hydrotermicznego na plonowanie i jakość nasion soi w warunkach Polski centralnej, z uwzględnieniem różnic pomiędzy systemami uprawy płuźnej i bezorkowej.

2. Określenie wpływu proekologicznego systemu uprawy soi ‘Abaca’ z zastąpieniem herbicydowej ochrony odchwaszczaniem mechanicznym na wzrost i rozwój roślin oraz na wielkość plonowania nasion.
3. Ocena wpływu zwiększenia gęstości siewu, stosowania / braku stosowania herbicydów na presję zachwaszczenia, cechy morfologiczne roślin konopi ‘Henola’, plon, elementy struktury plonu oraz na skład mineralny nasion konopi siewnych jednopiennych.
4. Określenie wpływu obróbki nasion i warunków tłoczenia oleju na wartość odżywczą, profil kwasów tłuszczowych, zawartość substancji antyodżywczych, stabilność oksydacyjną i bezpieczeństwo mikrobiologiczne makuchów konopnych i sojowych podczas przechowywania.
5. Ocena technicznej wykonalności i wartości odżywczej produkcji dwóch składników sojowych: pełnotłustej soi (Full Fat Soy, FFS) i tłoczonego ekspandatu sojowego (Expanded Soybean Cake, ESC) w systemie ciągłego przetwarzania barotermicznego, z wykorzystaniem soi niemodyfikowanej genetycznie ‘Abaca’ uprawianej w warunkach proekologicznych w Polsce centralnej.
6. Ocena agronomicznej i ekologicznej efektywności odmiany ‘Henola’ w trakcie trzyletniego okresu konwersji z uprawy konwencjonalnej na certyfikowaną ekologiczną.

## **3.2. MATERIAŁY I METODY BADAŃ**

### **3.2.1. Lokalizacja**

Badania oparto na doświadczeniach polowych prowadzonych w latach 2021–2024 w województwie kujawsko-pomorskim, powiecie brodnickim, w miejscowości Kozi Róg (53.1911°N, 19.4337°E). W pierwszym roku badań (2021) przedplonem dla konopi siewnych były konopie siewne, natomiast dla soi – kukurydza uprawiana na ziarno. Stanowiska znajdowały się na glebach klasy bonitacyjnej IV o następującym składzie granulometrycznym: cząstki >1 mm – 5%, 1–0.1 mm – 52%, 0.1–0.02 mm – 22%, <0.02 mm – 21%. Odczyn gleby był uregulowany, pH w roztworze KCl wynosiło 6.4–6.6.

### **3.2.2. Układ doświadczalny**

Doświadczenia prowadzono na polach produkcyjnych z wydzielonymi poletkami. Dla każdego gatunku wyznaczono 10 poletek doświadczalnych o powierzchni 4 m<sup>2</sup> każde, w pięciu replikacjach (łącznie 50 poletek). Umieszczano je w środkowej części łąnu, w odległości co najmniej 20 m od skrajów pola oraz od uwroci poprzecznych. Poletka rozmieszczono tak, aby każde mieściło się w pojedynczym przejeździe roboczym siewnika i opryskiwacza, z pominięciem ścieżek technologicznych.

### **3.2.3. Uprawa konopi siewnych**

Konopie siewne uprawiano w monokulturze przez cztery sezony (2021–2024). Od drugiego roku zwiększano normę wysiewu z 20 i 30 kg do 40 i 60 kg ha<sup>-1</sup>. Jednocześnie wyeliminowano stosowanie nawożenia mineralnego i chemicznej ochrony herbicydowej. Teren uprawy objęto konwersją ekologiczną i uzyskał status dopuszczający prowadzenie produkcji ekologicznej. Celem modyfikacji agrotechniki było ograniczenie zachwaszczenia, wyeliminowanie herbicydów i uzyskanie stabilnego plonu nasion przy wysokości roślin umożliwiającej jednoetapowy zbiór kombajnem.

Do siewu wykorzystano klasyczny siewnik zbożowy (rozstaw rzędów 12 cm, głębokość 3 cm). W 2021 r. zastosowano dogłębowo herbicyd Boxer 800 EC w dawce 3 l ha<sup>-1</sup> oraz nawożenie mineralne: N – 20 kg ha<sup>-1</sup>, P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> – 80 kg ha<sup>-1</sup>, K<sub>2</sub>O – 100 kg ha<sup>-1</sup>. Dodatkowo

pogłównie podano azot (N) w formie azotanowej i amonowej w ilości 40 kg ha<sup>-1</sup>. W latach 2022–2024 nie stosowano żadnych nawozów ani herbicydów.



**Fot. 1.** Wysiew soi i konopi klasycznym siewnikiem talerzowym, Agromasz SR300 (Polska), źródło: fotografia własna

### 3.2.4. Uprawa soi

Soję uprawiano w klasycznym systemie orkowym, wykorzystując siewnik talerzowy zbożowy (rozstaw rzędów 24 cm, głębokość siewu 3–4,5 cm). Przez wszystkie lata badań stosowano nawożenie przedsiewne P i K z dodatkiem wapnia, siarki i magnezu w masie łącznej nawozów wynoszącej 350 kg ha<sup>-1</sup>, z czego: P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> – 51 kg ha<sup>-1</sup>, K<sub>2</sub>O – 90 kg ha<sup>-1</sup>, MgO – 18 kg ha<sup>-1</sup>, CaO – 45 kg ha<sup>-1</sup>, SO<sub>4</sub> – 38 kg ha<sup>-1</sup>. Nie stosowano dodatkowego nawożenia mikroelementowego ani nawożenia azotowego.

W latach 2021–2023 ochronę herbicydową prowadzono dogłębowo do 3 dni po siewie, stosując mieszaninę metrybuzyny 600 SC (0,33 l ha<sup>-1</sup>) oraz S-metolachloru 960 EC (1 l ha<sup>-1</sup>). W 2024 r., po zmianie przepisów rozporządzeniem wykonawczym Komisji (UE) 2024/20 z dnia 12 grudnia 2023 r. w sprawie nieodnowienia zatwierdzenia substancji czynnej S-metolachlor, zgodnie z rozporządzeniem Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) nr 1107/2009, oraz w sprawie zmiany rozporządzenia wykonawczego Komisji (UE) nr 540/2011 (Dz.U. L, 2024/20, 03.01.2024) wskazano, że ta substancja czynna nie jest dopuszczona do stosowania w środkach ochrony roślin. Zastosowano więc metrybuzynę 600 SC (0,4 l ha<sup>-1</sup>) i fabryczną mieszaninę petoksamidu i chlomazonu (2 l ha<sup>-1</sup>). W latach 2022–2024 przeprowadzano także zabiegi powstosowe fabryczną mieszaniną bentazonu i imazamoksu 502,4 SL w dawkach dzielonych (łącznie nieprzekraczających 1,25 l ha<sup>-1</sup>). We wszystkich latach stosowano mechaniczne pilenie broną rotacyjną dłutową (Fot.2). Szczegółowe zestawienie herbicydów znajduje się w Tabeli 1, w publikacji: <https://doi.org/10.3390/app15158154>.



Fot. 2. Brona rotacyjna gwiazdowa stosowana do pielienia soi. Orekhovselmash BR-6g (Ukraina), źródło: fotografia własna

### 3.2.5. Zakres obserwacji i pomiarów polowych na roślinach konopi siewnych

W trakcie pełnego okresu wegetacyjnego, po zakończeniu fazy kwitnienia (BBCH 65), prowadzono obserwacje i pomiary obejmujące: obsadę roślin, wysokość łanu oraz poziom zachwaszczenia. Ocena wysokości roślin była przeprowadzana na podstawie pomiaru 10 losowo wybranych osobników na każdej parceli. Obsada była wyrażana w szt. m<sup>-2</sup> na podstawie przeliczenia liczby roślin w całej powierzchni poletka. Zachwaszczenie oceniano w sposób szczegółowy dla wybranych, dominujących gatunków o potencjale konkurencyjnym w stosunku do konopi siewnych. Monitorowano osobniki następujących gatunków: *Chenopodium album* (L.) (komosa biała), *Echinochloa crus-galli* (chwasznica jednostronna), *Anthemis arvensis* (L.) (rumian polny), *Fallopia convolvulus* (L.) Á. Löve (rdestówka powojowata), *Avena fatua* (L.) (owies głuchy) oraz *Artemisia vulgaris* (L.) (bylica pospolita). Rejestrowano tylko te rośliny, które miały potencjał wykształcenia nasion do czasu zbioru. Pozostałe gatunki chwastów uwzględniano zbiorczo bez podziału taksonomicznego. Dobór monitorowanych gatunków chwastów oparto na analizie literaturowej, własnych doświadczeniach autora oraz kryteriach praktycznych, takich jak: konkurencyjność wobec roślin uprawnych, wrażliwość na herbicyd prosulfokarb (jedynego zarejestrowanego dla tej uprawy), wymagania co do czystości materiału nasiennego oraz zdolność do kompensacji w warunkach monokultury.

Biomasę chwastów oznaczano w fazie pełnego kwitnienia konopi (BBCH 65) metodą kwadratów o powierzchni 1 m<sup>2</sup>, rozmieszczanych losowo w każdym powtórzeniu doświadczalnym. Wszystkie nadziemne części chwastów ścinano na powierzchni gleby, rozdrabniano i suszono w warunkach powietrzno-suchych do uzyskania stałej masy. Następnie materiał roślinny o wilgotności 8–10% cięto na drobne fragmenty, odmierzano porcje po 5 g i suszono w suszarce w temperaturze 103°C przez 4 h. Po wysuszeniu próbki ważono, określając suchą masę chwastów, zgodnie z metodyką opisaną w Rozporządzeniu Komisji (WE) nr 152/2009.

Zbiór nasion prowadzono jednoetapowo przy użyciu klasycznego kombajnu zbożowego wyposażonego w wytrząsacze klawiszowe. Zebrany materiał poddano wstępnemu czyszczeniu na urządzeniu CZ Major 1 (Polska), a następnie suszono na suszarni podłogowej BIN SP-17-J (Polska) z zastosowaniem zimnego powietrza do osiągnięcia wilgotności końcowej na

poziomie 10%. Po suszeniu nasiona ważono, pakowano w opakowania typu big bag i magazynowano w chłodnym, suchym pomieszczeniu bez dostępu światła słonecznego aż do momentu ich przetworzenia.

### 3.2.6. Zakres obserwacji i pomiarów polowych soi

W trakcie sezonu wegetacyjnego prowadzono regularne lustracje plantacji soi, ze szczególnym uwzględnieniem fazy rozwojowej kwitnienia (BBCH 50). W ramach obserwacji oceniano: powschodową obsadę roślin (szt. m<sup>-2</sup>), występowanie uszkodzeń siewek spowodowanych patogenami i żerowaniem ptaków, skuteczność działania herbicydów doglebowych, dobór terminów zabiegów mechanicznego odchwaszczania oraz intensywność formowania brodawek korzeniowych (w tym ich liczebność i lokalizację na systemie korzeniowym). W razie potrzeby ustalano konieczność i termin wykonania oprysku herbicydowego przy wtórnym zachwaszczeniu.

W fazie dojrzałości technologicznej (BBCH 85) wykonywano ocenę obsady roślin do zbioru, wysokości łanu, liczby strąków na roślinie oraz poziomu zachwaszczenia. W sposób szczegółowy monitorowano obecność następujących gatunków chwastów: *Chenopodium album* (komosa biała), *Galium aparine* (przytulia czepna), *Anthemis arvensis* (rumian polny), *Fallopia convolvulus* (rdestówka powojowata), *Amaranthus retroflexus* (szarłat szorstki) oraz *Solanum nigrum* (psianka czarna). Pozostałe gatunki chwastów ujęto zbiorczo, bez podziału na gatunki, zgodnie z przyjętą wcześniej metodą oceny zachwaszczenia w uprawie konopi.

Dobór chwastów do szczegółowego monitorowania oparto na ich znaczeniu ekologicznym i agronomicznym, wynikającym z trudności zwalczania, ekspansywności oraz zdolności kompensacji w warunkach monokultury.

Zbiór prowadzono kombajnem zbożowym wyposażonym w heder z kosą pływającą typu flex (Claas ConvioFlex 1380, Niemcy), umożliwiającą precyzyjne ścinanie strąków osadzonych nisko nad powierzchnią gleby. Plon ważono i przeliczano do wilgotności referencyjnej 13%, a nasiona magazynowano w stalowych silosach płaskodennych. Dla każdego obiektu badawczego określano również masę tysiąca nasion (MTN, g).

### 3.2.7. Zakres badań laboratoryjnych nasion konopi

Zebrane nasiona konopi siewnych poddano analizie składu chemicznego oraz frakcji fizycznych. Zawartość oleju surowego, białka ogólnego i włókna surowego oznaczono metodą spektroskopii w bliskiej podczerwieni (NIRS, ang. Near-Infrared Reflectance Spectroscopy) z wykorzystaniem aparatu FOSS Infratec™ NOVA (Dania), działającego w oparciu o metodę odbiciową.

Masa tysiąca nasion (MTN) została określona ręcznie na podstawie trzykrotnego ważenia prób po 1000 nasion. Dodatkowo przeprowadzono frakcjonowanie materiału nasiennego metodą sitową standardowo stosowaną dla zbóż, dzieląc nasiona na grupy wielkościowe. Na tej podstawie wyliczono procentowy udział poszczególnych frakcji w próbce reprezentatywnej. Próbkę nasion poddano również analizie zawartości makro- i mikroelementów: N, P, K, Ca, Na, Mg, Mn, Fe, Zn i Cu. Oznaczenia wykonano w Laboratorium Chemii Rolnej Politechniki Bydgoskiej zgodnie z metodyką szczegółowo opisaną w artykule: <https://doi.org/10.3390/foods14091605>.

### 3.2.8. Zakres badań laboratoryjnych nasion soi

Zebrane nasiona soi poddano analizie składu chemicznego i wybranych właściwości fizycznych. Oznaczenia wykonano metodą spektrometrii odbiciowej w bliskiej podczerwieni (NIRS, ang. Near-Infrared Reflectance Spectroscopy), zgodnie z normą PN-EN ISO 12099:2017, z wykorzystaniem analizatora całoziarnowego FOSS Infratec™ NOVA (Dania).

Analizy przeprowadzono w Laboratorium Zakładu Uszlachetniania Białka Roślinnego, należącym do jednostki współpracującej Agrolok Sp. z o.o. Kalibracja analizatora była walidowana dwukrotnie w ciągu roku względem metod referencyjnych, co pozwoliło zrezygnować z równoległego stosowania analiz chemicznych.

Ocenie poddano zawartość białka ogólnego, wilgotność, zawartość oleju surowego oraz gęstość nasypową. Dodatkowo, nasiona badano pod kątem zawartości substancji antyżywniowych, w tym inhibitorów trypsyny, a także rozpuszczalności białka w wodzie i w roztworze wodorotlenku potasu. Analizy wykonano w akredytowanych laboratoriach zgodnie z metodyką szczegółowo opisaną w publikacji: *Dual Production of Full-Fat Soy and Expanded Soybean Cake from Non-GMO Soybeans: Agronomic and Nutritional Insights Under Semi-Organic Cultivation* <https://doi.org/10.3390/app15158154>.

### **3.2.9. Metoda obłuszczenia i przetwórstwa nasion konopi siewnych (metoda własna)**

Zebrane nasiona konopi siewnych poddano frakcjonowaniu w oparciu o typową kalibrację sitową stosowaną dla zbóż. Otrzymane frakcje o średnicy >2,8 mm, 2,5–2,8 mm oraz 2,2–2,5 mm kierowano na dalsze etapy: proces obłuszczenia lub bezpośrednio tłoczenie. Frakcja drobna <2,2 mm (pośląd) nie była przedmiotem dalszych analiz.

Proces obłuszczenia prowadzono z wykorzystaniem urządzenia Hemp Seeds Dehulling Machine GG-1 (Longer Machinery, Chiny). Nasiona o jednorodnej wielkości podawano na trzy równoległe, perforowane walce gumowe o regulowanej odległości względem siebie, obracające się w tym samym kierunku z prędkością 2800 obr. min<sup>-1</sup>. W wyniku dwuetapowego kontaktu z walcami następowało mechaniczne zgniecenie łupiny i rozłupanie nasiona, po czym strumień sprężonego powietrza separował łuskę od jądra. Frakcja łupin, oddzielona metodą aspiracyjną, była usuwana z procesu.

Rozłupane nasiona kierowano następnie do mieszalnika mechanicznego GTH-MBM SD (Grutech, Polska), wyposażonego w spiralny poziomy wał z ażurową wstęgą obracającą się w łożu korytowym. Mechaniczne oddziaływanie konstrukcji mieszadła umożliwiała dalsze oddzielenie łuski od jądra nasiennego. Po zakończeniu tego etapu mieszaninę nasion i łusek oczyszczano za pomocą laboratoryjnej wialni Pfeuffer MLN (Niemcy), wykorzystującej system aspiracji oraz zestaw sit do sortowania według rozmiaru.

W tym celu zastosowano jednoślismakową prasę tłoczącą M-22 (Miramar, Polska), wyposażoną w adaptowalne podzespoły umożliwiające dostosowanie stopnia kompresji, prędkości wału oraz temperatury procesu do zmiennej twardości nasion. Ostateczny produkt – makuch – charakteryzował się zróżnicowaną zawartością resztkowego oleju i włókna, zależną od typu zastosowanego surowca i warunków technologicznych.

### **3.2.10. Metoda obłuszczenia i przetwórstwa nasion soi**

Nasiona soi zawierają termolabilne substancje antyżywniowe, dlatego nie mogą być spożywane w stanie surowym bez wcześniejszej obróbki termicznej. W celu ograniczenia zawartości tych substancji oraz poprawy strawności opracowano – we współpracy z podmiotem wdrożeniowym – technologię przetwórczą opartą na przetwarzaniu w procesie ciągłym. Etapy tego procesu przedstawiono w schemacie 2 i tabeli 2, opisanych w publikacji: *Dual Production of Full-Fat Soy and Expanded Soybean Cake from Non-GMO Soybeans: Agronomic and Nutritional Insights Under Semi-Organic Cultivation* <https://doi.org/10.3390/app15158154>.

W procesie tym otrzymywano ekspandowaną soję pełnotłustą (Full-Fat Soya, FFS), której zawartość białka ogólnego wynosiła ok. 34%. Technologia ta opiera się na obróbce termicznej na mokro, z wykorzystaniem pary wodnej i wysokiego ciśnienia. W celu ograniczenia zawartości tłuszczu w produkcie końcowym, zmodyfikowano proces poprzez wprowadzenie dodatkowego etapu tłoczenia. Po wstępnym suszeniu, ekspandowany materiał kierowano na prasę

ślimakową, a następnie kontynuowano suszenie i strukturyzację. W efekcie otrzymano dwa komponenty: olej sojowy oraz ekspandowany makuch sojowy (Expanded Soybean Cake, ESC) o zawartości białka ogólnego na poziomie ok. 38% i tłuszczu ok. 12%. Badaniom poddano trzy produkty: ekspandat pełnotłusty, makuch odtłuszczony oraz olej sojowy, zgodnie z metodologią opisaną w przywołanym artykule.

### **3.2.11. Metody analityki laboratoryjnej makuchów i olejów zimno tłoczonych**

Makuchy uzyskane w procesie tłoczenia zostały rozdrobnione na młynku Knifetec KN 295 (FOSS, Dania), przystosowanym do prób tłustych i chłodzonym wodą. Następnie materiał poddano wstępnej analizie przy użyciu analizatorów spektroskopowych FOSS DA1650 oraz Bruker MPA II (USA), z wykorzystaniem technologii NIRS zgodnie z normą PN-EN ISO 12099:2017, w oparciu o dostępne kalibracje fabryczne.

Zawartość białka ogólnego, tłuszczu surowego i włókna surowego w tych samych próbkach oznaczano również metodami referencyjnymi („mokrymi”) w pracowni analityki mokrej Laboratorium Zakładu Uszlachetniania Białka Roślinnego (Agrolok Sp. z o.o.).

Wybrane próbki, po wcześniejszym przebadaniu metodami NIRS i referencyjnymi, kierowano do laboratoriów zewnętrznych w celu oznaczenia dodatkowych parametrów. W przypadku makuchów sojowych oznaczano: poziom inhibitorów trypsyny, rozpuszczalność białka w KOH oraz indeks dyspersyjności białka (PDI). W przypadku makuchów konopnych analizowano: zawartość błonnika, fitynianów, ligniny, kwasów uronowych i oligosacharydów. Makuchy pochodzące z obu gatunków roślin zostały również poddane analizie wartości odżywczych, z uwzględnieniem profilu kwasów tłuszczowych. Ponadto przeprowadzono testy starzeniowe w celu określenia terminu przydatności do spożycia.

Uzyskane wyniki wykorzystano do opracowania kalibracji dla urządzeń wykorzystujących technologię NIRS, co w przyszłości pozwoli ograniczyć czasochłonność i koszty laboratoryjnej oceny jakości makuchów spożywczych. Widma spektroskopowe zbierane w trakcie produkcji w trybie ciągłym stanowiły istotne źródło danych dla walidacji opracowywanych metod.

Szczegółowe opisy wykorzystanych procedur analitycznych znajdują się w artykułach: <https://doi.org/10.3390/app15158154> oraz <https://doi.org/10.3390/foods14091605>.

## **3.3. WYNIKI I DYSKUSJA**

### **3.3.a. Konopie siewne**

#### **3.3.a.1. Wpływ gęstości siewu i sposobu odchwaszczania na plonowanie i jakość nasion konopi siewnych**

Część wynikowa dotycząca praktyk agrotechnicznych dla konopi siewnych opiera się na danych opublikowanych oraz wynikach własnych, dotąd niepublikowanych, zgodnych z zakresem Indywidualnego Planu Badawczego autora. Badania obejmowały dwa niezależne doświadczenia polowe przeprowadzone na odmianach jednopiennych: ‘Secuieni Jubileu’ i ‘Henola’, różniących się przeznaczeniem użytkowym oraz systemem prowadzenia uprawy.

W pierwszym doświadczeniu, opublikowanym przez Wenda-Piesik i Ambroziak (2023) <https://doi.org/10.5601/jelem.2023.28.3.2425>, analizowano wpływ gęstości siewu oraz zastosowania herbicydu prosulfokarb, na wielkość i jakość plonu nasion odmiany ‘Secuieni Jubileu’. Porównano trzy warianty: P1 – siew 20 kg ha<sup>-1</sup> z herbicydem, P2 – siew 30 kg ha<sup>-1</sup> z herbicydem, oraz PC – siew 30 kg ha<sup>-1</sup> bez herbicydu (tab. 2). Wyniki wykazały, że zarówno wyższa obsada, jak i stosowanie herbicydu wpływały istotnie na obniżenie zachwaszczenia. Gęstość siewu modyfikowała także cechy morfologiczne roślin oraz strukturę frakcyjną plonu nasion –

przy wyższej obsadzie obserwowano wyższą średnią wysokość roślin oraz dominację frakcji nasion o średnicy 2,5 mm. Zawartość makro- i mikroelementów w nasionach różniła się istotnie między obiektami, szczególnie pod względem zawartości azotu, fosforu i potasu.

Drugie doświadczenie, opracowane w ramach publikacji będącej obecnie w recenzji (Wenda-Piesik & Ambroziak, 2025, *Industrial Crops and Products*), dotyczyło odmiany ‘Henola’ uprawianej przez trzy sezony w monokulturze w warunkach konwersji ekologicznej (zgodnie z Rozporządzeniem UE 2018/848). Badano wpływ dwóch norm wysiewu: 40 kg ha<sup>-1</sup> (S1) i 60 kg ha<sup>-1</sup> (S2) na parametry morfologiczne oraz stabilność plonowania. Przez cały okres badań nie stosowano nawozów syntetycznych ani herbicydów, a odchwaszczanie prowadzono mechanicznie za pomocą brony rotacyjnej (model BR-6g, Orekhovselmash, Ukraina). Wyniki wykazały, że zwiększona obsada roślin (S2) wpływała na stabilność plonowania, pomimo uprawy w systemie monokultury, co świadczy o potencjale adaptacyjnym odmiany ‘Henola’ do warunków uprawy ekologicznej.

### 3.3.a.1.1. Architektura łanu konopnego (wyniki niepublikowane z manuskryptu [Wenda-Piesik, Ambroziak 2025, w recenzji])

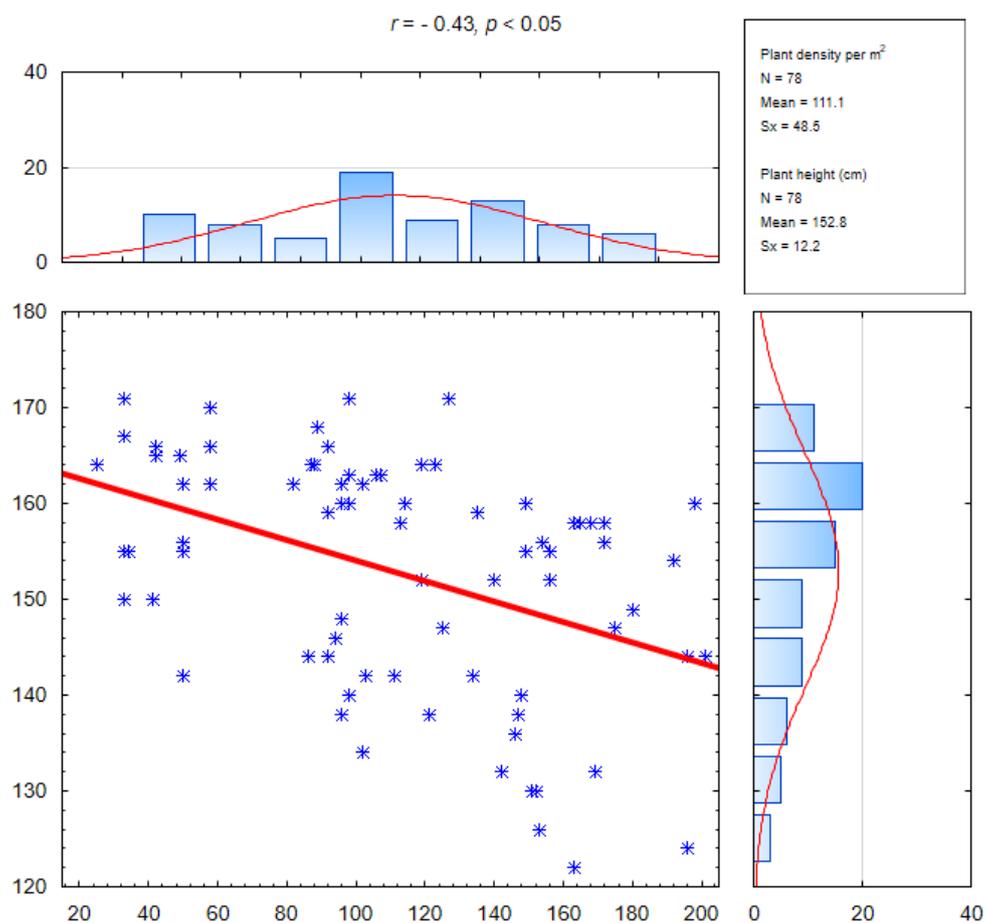
Na obsadę roślin w fazie dojrzałości technologicznej istotny wpływ miały zarówno warunki siedliskowe danego roku ( $F = 2,47$ ,  $p < 0,001$ ), jak i zastosowana norma wysiewu ( $F = 42,09$ ,  $p < 0,001$ ) (tab. 1). W analizowanym trzyletnim okresie średnia gęstość roślin dla wariantu S2 (60 kg ha<sup>-1</sup>) wynosiła 71,7 roślin m<sup>-2</sup>, natomiast w wariantcie S1 (40 kg ha<sup>-1</sup>) – 51,6 roślin m<sup>-2</sup>, co stanowiło wzrost obsady o 39% w wariantcie z większą normą wysiewu (tab. 2). Zmienność (CV) tego parametru była jednak znaczna, szczególnie w sezonie 2024 (do 55,8%), co może wskazywać na dużą podatność na siedliskowe różnice warunków wzrostu.

**Tabela 1.** Średnie kwadraty z dwukierunkowej analizy wariancji dla cech konopi ‘Henola’ w systemie ekologicznym

Źródło zmienności	Df	Plon nasion	Fracja nasion			MTN	Zagęszczenie roślin	Wysokość rośliny
			2,2–2,5	2,5–2,8	> 2,8			
Rok	2	65,66***	6,59*	13,84*	13,48*	2,474***	1320*	3162***
Gęstość	1	40,56***	29,84***	26,21*	0,12	0,047	42090***	1341***
Rok × gęstość	2	4,10***	17,86**	6,86*	3,13	1,208***	398***	24***
Reszta	20	0,12	1,85	3,57	3,81	0,015	41	9

Df – stopnie swobody; \* –  $P < 0,05$ ; \*\* –  $P < 0,01$ ; \*\*\* –  $P < 0,001$

Rok oraz norma wysiewu miały również istotny wpływ na wysokość roślin ( $F = 31,62$ ,  $p < 0,001$  oraz  $F = 13,41$ ,  $p < 0,001$ ). Rośliny uprawiane w niższym zagęszczeniu osiągały średnio większą wysokość, co można tłumaczyć ograniczoną konkurencją wewnątrzgatunkową. Zależność ta została potwierdzona analizą regresji liniowej, która wykazała umiarkowaną ujemną korelację pomiędzy zagęszczeniem a wysokością roślin ( $r = -0,43$ ), co odpowiada obniżeniu wysokości o około 1,07 cm na każde 10 dodatkowych roślin m<sup>-2</sup> (rys. 1).



**Rys. 1.** Zależność między gęstością roślin (szt. m<sup>-2</sup>) – oś x, a wysokością roślin (cm) – oś y, konopi ‘Henola’ uprawianych w systemie ekologicznym

**Tabela 2.** Gęstość konopi (szt. m<sup>-2</sup>) i wysokość rośliny (cm) w konwencjonalnym i ekologicznym systemie uprawy

Czynnik		Zagęszczenie roślin		Wysokość rośliny	
Rok	System	Średnia ± S <sub>E</sub>	Cv (%) <sup>@</sup>	Średnia ± S <sub>E</sub>	Cv (%)
2021	P1	46,0 ± 4,0	17,4	163,8 ± 3,1	3,8
	P2	43,5 ± 8,6	39,2	164,0 ± 2,6	3,1
	PC	50,0 ± 6,9	27,8	160,6 ± 2,1	2,6
2022	S1*	47,8 ± 4,0 <sup>a#</sup>	18,5	154,5 ± 4,7	6,1
	S2	37,5 ± 5,3 <sup>b</sup>	28,3	156,0 ± 2,9	3,7
2023	S1	39,5 ± 6,2 <sup>b</sup>	31,2	159,5 ± 4,6	5,7
	S2	53,8 ± 2,5 <sup>a</sup>	29,2	165,8 ± 1,7	2,0
2024	S1	71,5 ± 19,9 <sup>b</sup>	55,8	153,5 ± 2,0	2,5
	S2	123,8 ± 4,6 <sup>a</sup>	47,4	149,5 ± 2,7	3,3
Ogólnie	S1	51,6 ± 7,7 <sup>B</sup>	51,8	155,8 ± 2,4 <sup>B</sup>	5,1
	S2	71,7 ± 11,5 <sup>A</sup>	55,6	157,1 ± 1,8 <sup>A</sup>	3,9

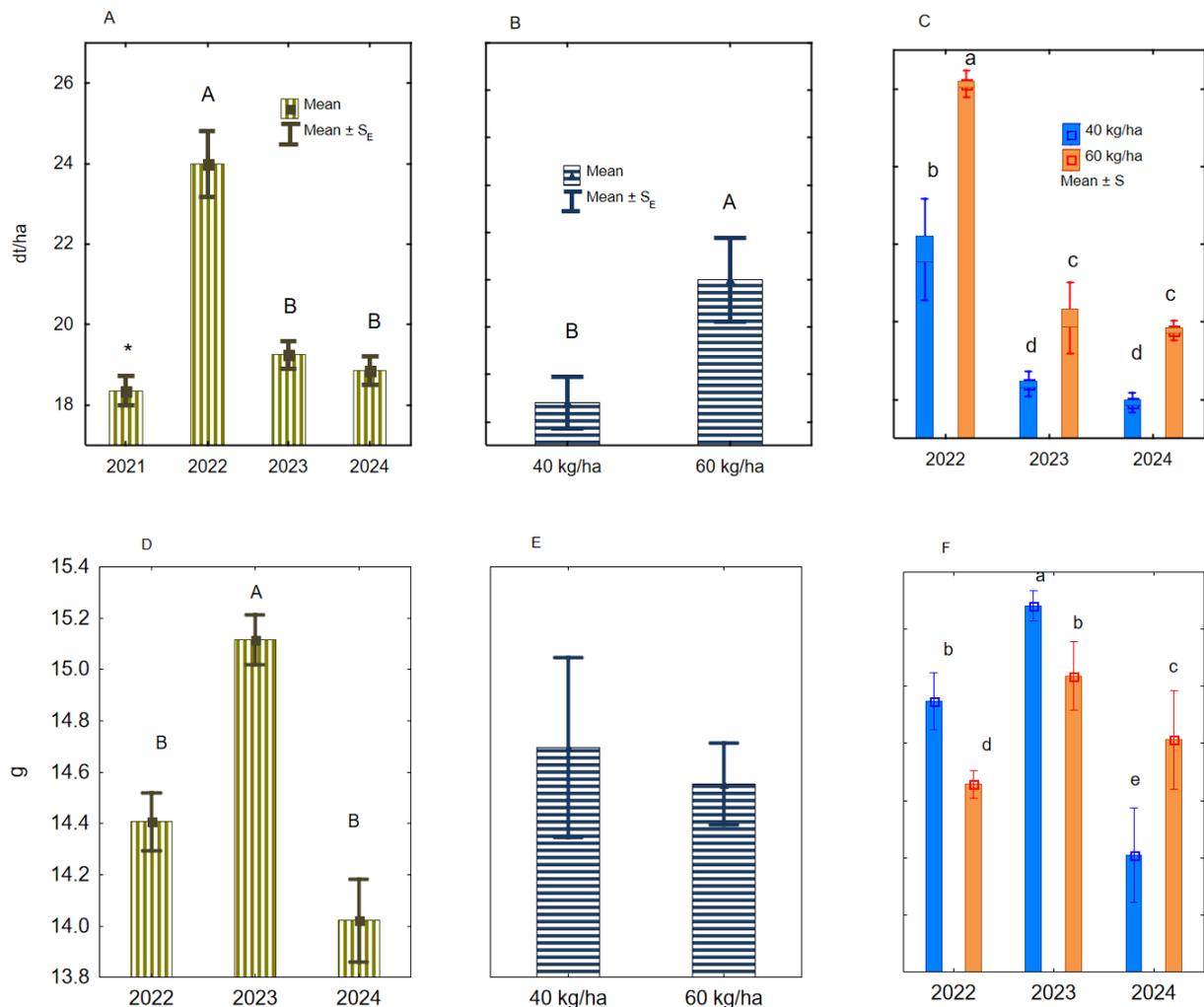
\*Gęstość wysiewu (S1) 40 kg ha<sup>-1</sup> i (S2) 60 kg ha<sup>-1</sup>

# średnie różne statystycznie w kolumnie pomiędzy S1 i S2, zgodnie z testem HSD Tukeya, przy  $p = 0,05$

@ współczynnik zmienności Pearsona.

### 3.3.a.1.2. Plon i dorodność nasion konopi siewnych

Analiza wariancji (dwukierunkowa ANOVA) wykazała istotny wpływ zarówno roku, jak i gęstości siewu na plon nasion odmiany ‘Henola’ w okresie konwersji organicznej, a także istotną interakcję zagęszczenia  $\times$  roku (tab. 1). Średnie plony nasion wahały się od 19,2 do 24,0 dt ha<sup>-1</sup> w ciągu trzech lat, przy czym najwyższą produktywność odnotowano w pierwszym roku konwersji na ekologię (2022). We wszystkich latach wyższa gęstość siewu (60 kg ha<sup>-1</sup>; S2) skutkowała znacznie większymi plonami niż w przypadku niższej gęstości (40 kg ha<sup>-1</sup>; S1), przy średniej przewadze plonu wynoszącej około 3 dt ha<sup>-1</sup> (rys. 2A–C). Różnice te były istotne statystycznie ( $F = 40,56$ ,  $p < 0,001$ ), a szczególnie wyraźne w pierwszym roku badań. MTN wykazywała istotną zmienność na przestrzeni lat ( $F = 13,84$ ,  $p < 0,05$ ) oraz istotną interakcję z gęstością siewu ( $F = 6,86$ ,  $p < 0,05$ ). Najwyższą MTN (15,1 g) odnotowano w drugim roku (2023), natomiast najniższe wartości zaobserwowano w 2022 i 2024 r. Jakkolwiek główny wpływ zagęszczenia siewu na MTN nie był istotny statystycznie, to różnice w obrębie poszczególnych lat wskazywały na tendencję do zwiększania MTN w gęstszych obsadach w 2024 r. (rys. 2D–F).

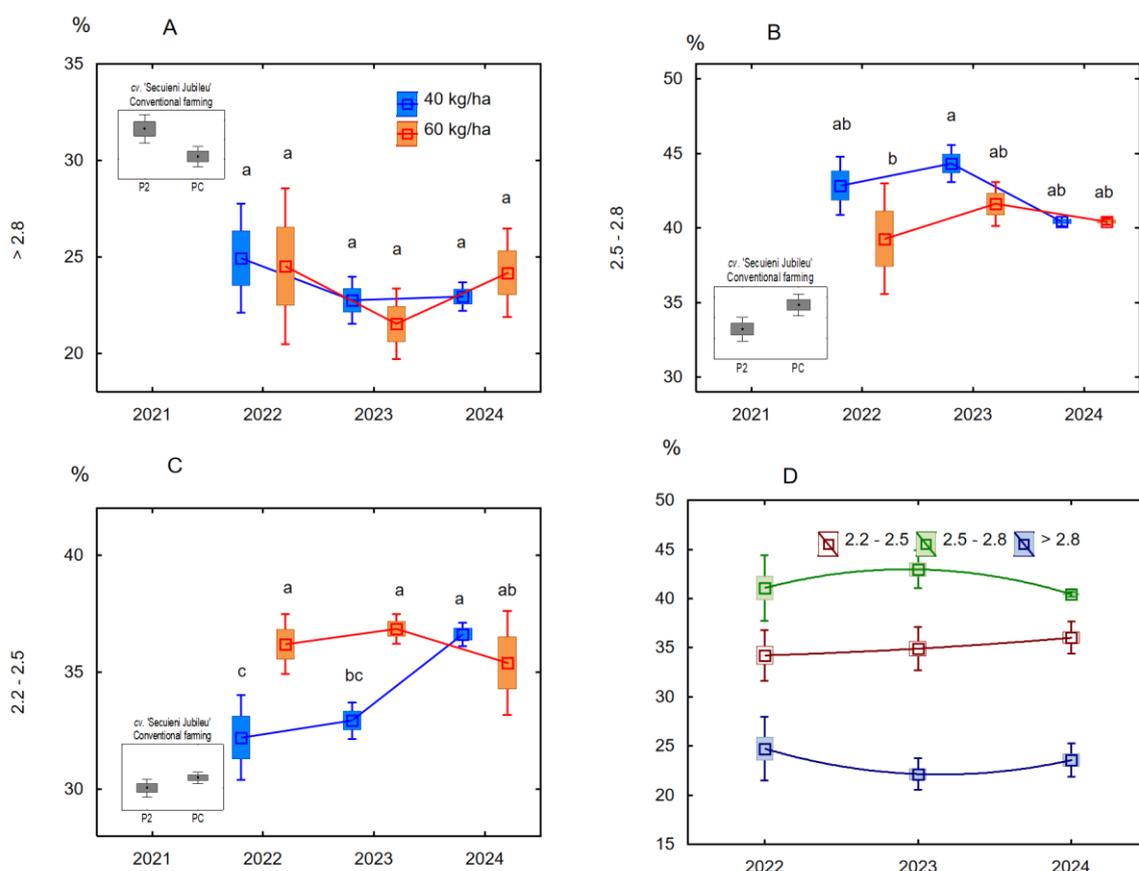


**Rys. 2.** Plon nasion (dt ha<sup>-1</sup>) (A-C) i MTN (g) (D-F) konopi odmiany ‘Henola’ w latach, dla dwóch gęstości siewu i dla interakcji (rok  $\times$  gęstość siewu) w konwersji rolnictwa ekologicznego

Podsumowując praktyki polowe, wyniki te pokazują, że odmiana ‘Henola’ doskonale nadaje się do uprawy ekologicznej, wykazując stabilne plony i korzystną jakość nasion nawet w warunkach ciągłej monokultury. Wyższa gęstość siewu konsekwentnie poprawiała zagęszczenie ładu i plon nasion, co sprawiło, że jest to zalecana praktyka w ramach protokołów rolnictwa ekologicznego.

### 3.3.a.1.3. Frakcje nasion konopi siewnych i zawartość oleju

Frakcjonowanie wielkości nasion wykazało istotny wpływ roku ( $F = 6,59, p < 0,05$ ) oraz gęstości siewu ( $F = 29,84, p < 0,001$ ) na rozmieszczenie nasion w określonych klasach wielkości (2,2–2,5 mm, 2,5–2,8 mm, > 2,8 mm). Efekty interakcji były również istotne ( $F = 17,86, p < 0,01$ ), co sugeruje, że warunki środowiskowe oraz struktura ładu wspólnie wpływały na rozwój nasion (tab. 3). Większe nasiona (> 2,8 mm) były liczniejsze w 2022 r., kiedy w systemie S2 stosowano jeszcze nawożenie. Natomiast w 2024 r. przeważały mniejsze frakcje (rys. 3).



**Rys. 3.** Wielkość nasion (mm) konopi siewnych ‘Henola’ w oddziaływaniu (rok x gęstość siewu) (A-C) i wahaniach wielkości frakcji nasion w latach konwersji na ekologiczny system produkcji (D)

Analiza frakcji nasion i zawartości oleju w trzyletnim okresie konwersji (2022–2024) ujawniła spójne wzorce w rozkładzie wielkości nasion oraz powiązanej z nimi procentowej zawartości oleju (tab. 3). Wyróżniono trzy klasy wielkości nasion: 2,2–2,5 mm, 2,5–2,8 mm i >2,8 mm. Największa frakcja (>2,8 mm), mimo że stanowiła mniejszy udział ogółu nasion (8,8–12,3%), konsekwentnie charakteryzowała się wyższą zawartością oleju – od 29,1% do 32,2%.

Najmniejsza frakcja (2,2–2,5 mm) wykazywała tendencję do niższej zawartości oleju, mieszczącej się w zakresie od 25,1% do 28,0%. Frakcja średnia (2,5–2,8 mm), stanowiąca większość nasion (~40–44%), wykazywała pośredni poziom oleju (27,1–30,1%).

**Tabela 3.** Zawartość oleju (%) w trzech frakcjach wielkości nasion konopi odmiany ‘Henola’ o dwóch gęstościach siewu podczas konwersji do rolnictwa ekologicznego (2022–2024)

Rok	Gęstość siewu	2,2–2,5 mm	2,5–2,8 mm	>2,8 mm
2022	S1*	28,0	30,1	32,2
	S2	26,3	28,6	30,3
2023	S1	27,8	29,4	30,9
	S2	25,2	27,1	29,1
2024	S1	27,0	29,0	29,9
	S2	25,1	27,9	29,5

\* Gęstość wysiewu (S1) 40 kg ha<sup>-1</sup> i (S2) 60 kg ha<sup>-1</sup>

### 3.3.a.2. Regulacja zachwaszczenie plantacji konopi siewnych w konwersji na system ekologiczny

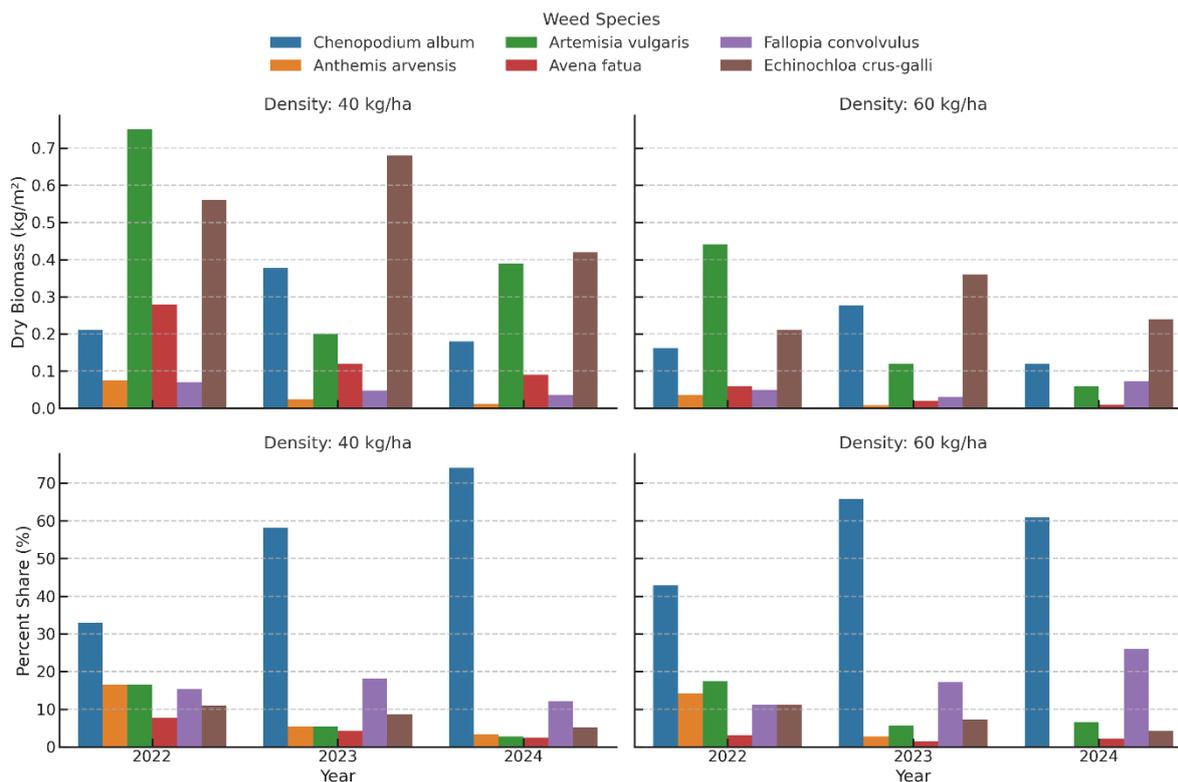
Analiza zachwaszczenia wykazała silne interakcje między gęstością siewu, sezonem wegetacyjnym i liczebnością specyficzną dla gatunku. Dwukierunkowa ANOVA wykazała, że na biomasa i występowanie dominujących gatunków chwastów istotny wpływ miał rok i norma wysiewu (tabela 4). W przypadku *Chenopodium album* (komosa biała), *Anthemis arvensis* (rumian polny) i *Fallopia convolvulus* (rdestówka powojowata), oba główne efekty – rok i gęstość siewu – były bardzo znaczące (odpowiednio  $p < 0,001$  i  $p < 0,05$ ), z godnymi uwagi interakcjami rok  $\times$  gęstość dla *Chenopodium album* ( $F = 15,44$ ,  $p < 0,01$ ).

**Tabela 4.** Średnie kwadraty z dwukierunkowej analizy wariancji dla występowania gatunków chwastów w uprawach konopi cv. ‘Henola’ w systemie ekologicznym

Źródło zmienności	Df	<i>Chenopodium album</i> L.	<i>Anthemis arvensis</i> L.	<i>Artemisia vulgaris</i> L.	<i>Avena fatua</i> L.	<i>Echinochloa crus-galli</i>	<i>Fallopia convolvulus</i> (L.) Á. Löve
Year	2	59,16***	6,04***	1,37	0,51*	0,74	6,83***
Density	1	40,62***	3,24*	1,36	1,74**	1,84	1,58*
Year $\times$ Density	2	15,44**	0,07	0,09	0,09	0,74	0,05
Residual	54	2,93	0,47	0,52	0,17	1,05	0,35

Df – stopnie swobody; \* –  $P < 0,05$ ; \*\* –  $P < 0,01$ ; \*\*\* –  $P < 0,001$

Sucha biomasa *C. album* znacznie spadła w latach 2021–2024, co sugeruje dużą wrażliwość na zacienianie przez konopie, szczególnie przy wyższych wskaźnikach wysiewu. Podobne, choć mniej wyraźne, tendencje zaobserwowano u *A. arvensis* i *F. convolvulus*. W przeciwieństwie do tego, gatunki wieloletnie, takie jak *Artemisia vulgaris*, wykazywały bardziej stabilną biomasa na przestrzeni lat i gęstości, co prawdopodobnie odzwierciedla ich wieloletnie systemy korzeniowe i zdolność do tolerowania konkurencji (rys. 4).

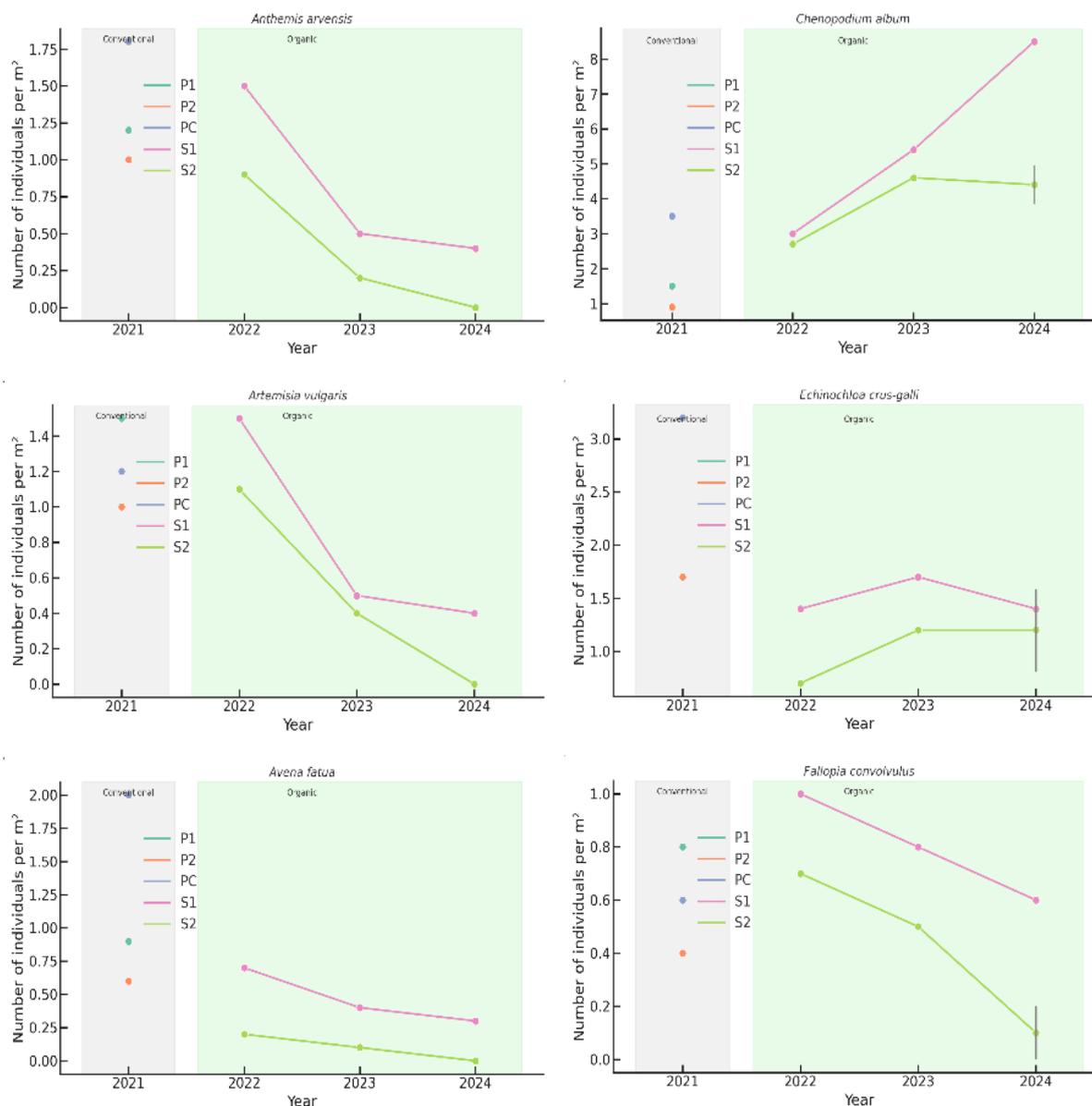


**Rys. 4.** Porównanie suchej biomasy ( $\text{kg m}^{-2}$ ) i udziału dominujących gatunków chwastów (% osobników  $\text{m}^{-2}$ ) w odmianie konopi ‘Henola’ w podziale na lata i gęstość siewu (40 vs. 60  $\text{kg ha}^{-1}$ ). Panele: górny: biomasa sucha, dolny: % udział indywidualny

Wśród jednorocznych chwastów trawiastych *Echinochloa crus-galli* (chwastnica jednostronna) utrzymywała względnie stałą biomasa, podczas gdy *Avena fatua* (owies głuchy) wykazywał niewielki wzrost liczebności osobników przy niższych gęstościach konopi. Porównawcze redukcje suchej biomasy w latach 2021-2024 były najbardziej wyraźne w przypadku *C. album* (ok. 60–80%) i *F. convolvulus* (ok. 45%), co potwierdza represyjną rolę konopi w tym zakresie, zwłaszcza przy gęstym siewie. Najniższą redukcję biomasy (~50%) zaobserwowano w przypadku *A. vulgaris*, co jest zgodne z jego strategią ekologiczną jako trwałego chwastu w systemach o niskim nakładzie pracy.

Ogólnie, gęsta struktura ładu konopi doprowadziła do znacznie niższego porażenia chwastami w porównaniu z poziomami zwykle odnotowywanymi w uprawach zbóż lub roślin oleistych uprawianych w warunkach ekologicznych. Wyniki te podkreślają wartość funkcjonalną konopi w ekologicznych strategiach zwalczania chwastów, a także ich rolę w zwiększaniu różnorodności biologicznej przy jednoczesnym tłumieniu dominujących konkurentów.

Porównanie struktury zbiorowisk chwastów w latach 2021 i 2024 wyraźnie obrazuje efekty przejścia z rolnictwa konwencjonalnego na ekologiczne w konopiach odmiany ‘Henola’. W 2021 r., przy konwencjonalnym zarządzaniu herbicydem i azotem mineralnym, porażenie chwastami było niskie i zdominowane przez kilka gatunków nitrofilnych, głównie *Chenopodium album* i *Fallopia convolvulus*. Po przejściu na system ekologiczny (2022–2024) ogólna liczba osobników i biomasa chwastów zwiększyła się umiarkowanie, ale skład gatunkowy uległ zróżnicowaniu. *Anthemis arvensis*, *Artemisia vulgaris* i *Avena fatua* stały się bardziej widoczne w późniejszych latach, szczególnie przy niższym zagęszczeniu siewu. Jednak pomimo braku kontroli chemicznej, *C. album* wykazał znaczny spadek względnej liczebności, co sugeruje tłumienie przez łąn konopny i eliminację nawożenia azotem (rys. 5).



**Rys. 5.** Dynamika zasobności chwastów (średnia liczba szt. m<sup>-2</sup>) konopi odmiany ‘Henola’ w latach 2021-2024 w rolnictwie konwencjonalnym (2021) i ekologicznym (2022-2024)

Sucha biomasa i udział w całkowitym zbiorowisku chwastów potwierdziły, że *E. crus-galli* i *A. vulgaris* zachowały stabilność ekologiczną w czasie, podczas gdy gatunki takie jak *F. convolvulus* stopniowo zanikały. Odkrycia te potwierdzają użyteczność gęstego siewu jako naturalnej strategii kontroli w organicznych systemach konopnych. Tendencje specyficzne dla danego gatunku przedstawione na rys. 5 potwierdzają wyraźną dynamikę dla każdego gatunku chwastów, podkreślając ich zróżnicowane reakcje na zagęszczenie ładu i przejście na warunki rolnictwa ekologicznego.

Stopniowe przechodzenie od uprawy konwencjonalnej do ekologicznej odmiany konopi odmiany ‘Henola’ wykazało znaczny spadek zarówno gęstości, jak i biomasy populacji chwastów. W szczególności sucha biomasa *C. album* zmniejszyła się o około 60–80% w latach 2021–2024. Mniej wyraźne, ale nadal znaczące spadki odnotowano w przypadku *Artemis arvensis* i *Fallopia convolvulus* w którym wykazano redukcję biomasy o około 25–45%. *Artemisia vulgaris*, jako gatunek wieloletni, utrzymywała bardziej stabilną biomasa przez lata i gęstości siewu, z najniższą ogólną redukcją biomasy (~50%) – prawdopodobnie

odzwierciedlającą jej strategię trwałości i tolerancję na konkurencję międzygatunkową [Jan-kauskienė et al. 2017]. Wśród jednorocznych chwastów trawiastych, *Echinochloa crus-galli* wykazały niewielkie zmiany w biomacie, podczas gdy *Avena fatua* wykazała niewielki wzrost liczby osobników przy niższych gęstościach siewu, co sugeruje wrażliwość na światło i potencjał ucieczki w warunkach otwartego ładu. Obserwacje te odzwierciedlają ustalenia [Markowska et al. 2021], w ramach której zwrócono uwagę na specyficzną dla danego gatunku wrażliwość na gęstość wiech konopnych i aktywność biochemiczną pozostałości konopi we wpływie na zmiany w zbiorowiskach chwastów.

Ogólna zmiana populacji ujawniła spadek liczby szybko rosnących, azotolubnych gatunków, na co prawdopodobnie wpłynęło zarówno wyeliminowanie dopływu azotu mineralnego, jak i poprawa pokrycia sklepienia ładu przez wiechy konopne. Wynik ten jest zgodny z [Pantović, Sečanski 2022], w którym zaobserwowano podobne zmiany funkcjonalne w zbiorowiskach chwastów w niskonakładowych systemach organicznych.

Mechaniczne zwalczanie chwastów pozostaje podstawową strategią w ekologicznej uprawie konopi. Techniki takie jak wczesne bronowanie ślepe i uprawa międzyrzędowa są skuteczne, jeśli są dokładnie określone w czasie pod kątem fenologii chwastów i warunków glebowych [Pantović, Sečanski 2022]. Według wcześniejszych doniesień wielu badaczy w tym [Rueda-Ayala et al. 2010] sukces zależy od precyzji regulacji narzędzia, struktury gleby i odporności upraw. Szywna łodyga konopi i wczesny wigor pozwalają na selektywne bronowanie przy minimalnych uszkodzeniach we wczesnych fazach wzrostu. Poza strategiami mechanicznymi to allelopatia staje się istotnym naturalnym mechanizmem tłumienia chwastów w systemach konopnych. Kilka badań potwierdza fitotoksyczny potencjał konopi. Autorzy [Shikanai, Gage 2022] a także [Sunoj Valiarambil Sebastian et al. 2023] opisują wysięki korzeniowe i liściowe *Cannabis sativa*, które hamują kiełkowanie i wczesny wzrost konkurencyjnych gatunków. Najnowsze spostrzeżenia [Kojić et al. 2025] potwierdzają, że wodne i ultradźwiękowe ekstrakty z liści konopi znacznie zmniejszyły kiełkowanie i żywotność badanych nasion.

Co najważniejsze, bioaktywność była związana nie z kannabinoidami, ale z flawonoidami, takimi jak orientyna, luteolina i apigenina, podkreślając nowe szlaki biochemiczne do naturalnego zwalczania chwastów. Potwierdza to hipotezę, że pozostałości konopne, pozostawione jako ściółka lub stosowane w płodozmianie, mogą przyczynić się do ekologicznego tłumienia chwastów poza fizyczną konkurencją [Kojić et al. 2025] [Markowska et al. 2021].

Wyniki badań potwierdziły, że gęstość siewu i warunki pogodowe miały istotny wpływ na plon nasion odmiany 'Henola'. Najwyższe plony uzyskano przy zagęszczeniu 71,7 szt. m<sup>-2</sup>, co jest zgodne z zaleceniami dla systemów ekologicznych, w których optymalna gęstość siewu kompensuje ograniczoną dostępność składników pokarmowych [Bruce et al. 2022]. Jednocześnie, zarówno w 2022, jak i 2024 roku, plony były porównywalne z 2021 r. – sezonem prowadzonym przy konwencjonalnym nawożeniu mineralnym – co świadczy o zdolności 'Henola' do utrzymania efektywnej produktywności bez wkładów syntetycznych. Maksymalny plon odnotowany w pierwszym roku konwersji (24,0 dt ha<sup>-1</sup>) jest porównywalny z plonem zgłoszonym przez [Amaducci et al. 2015] i [Fike 2016], w ramach której udokumentowano plony w zakresie od 20 do 25 dt ha<sup>-1</sup> w przypadku konopi siewnych w warunkach konwencjonalnych i proekologicznych. Pozytywna reakcja plonu na większą gęstość siewu jest zgodna z wcześniejszymi badaniami przeprowadzonymi przez [Burczyk, Frankowski 2018], w ramach której stwierdzono, że zwiększona gęstość roślin poprawia tłumienie chwastów i wychwytywanie światła, zwiększając w ten sposób biomase i plon nasion. Podobnie [Hall et al. 2014] zauważyli, że gęstsze obsady zmniejszają zmienność wewnątrz rzędów i sprzyjają równomiernemu dojrzewaniu, co może wyjaśniać przewagę plonów zaobserwowaną w przypadku ilości wysiewu 60 kg ha<sup>-1</sup>.

Stabilność plonowania przy ograniczonym nawożeniu może wynikać z cech odmianowych, takich jak głęboki system korzeniowy i zwarta architektura roślin, a także z pozytywnego

wpływu konopi na środowisko glebowe. Jak wykazali [Adesina et al. 2020] oraz [Basak et al. 2025], konopie wykazują zdolność do fitoremediacji oraz wspierania aktywności i struktury mikrobiologicznej gleby, skutecznie kompensując brak intensywnego nawożenia. Inni tacy jak [Burczyk, Oleszak 2016] zwrócili również uwagę na odporność 'Henoli' na okresowe susze i krótkotrwałe podtopienia.

Wartości masy tysiąca nasion (MTN) w zakresie od 14,1 do 15,1 g mieszczą się w typowym zakresie podawanym dla jednopiennych odmian konopi oleistych, takich jak 'Futura' i 'USO-31' [Struik et al. 2000]. Międzyroczna zmienność MTN prawdopodobnie odzwierciedla czynniki środowiskowe, takie jak dostępność wody i temperatura w okresie napełniania orzeszków, co zostało udokumentowane przez [Citterio et al. 2003]. Warto zauważyć, że brak silnego głównego wpływu gęstości siewu na MTN sugeruje, że rozwój nasion jest mniej wrażliwy na gęstość obsady niż na składniki plonu, takie jak liczba i wielkość roślin. Jest to zgodne z obserwacjami przeprowadzonymi przez [Yazici, Mirze 2025] i [Bruce et al. 2022], którzy poinformowali, że dostępność wody w fazie napełniania nasion ma duży wpływ na MTN i skład frakcji nasion. Odzwierciedla to rosnące znaczenie selekcji odmian przystosowanych do zmienności klimatu. Autorzy [Tubiello et al. 2007] wykazali, że zwiększona częstotliwość ekstremalnych zjawisk pogodowych stanowi poważne wyzwanie dla rolnictwa, co jeszcze bardziej uwypukliło znaczenie odpornych odmian, takich jak 'Henola'.

We wszystkich latach gęstsza norma wysiewu  $60 \text{ kg ha}^{-1}$  (S2) nieznacznie zmniejszyła udział dużych nasion w porównaniu z ilością  $40 \text{ kg ha}^{-1}$  (S1), prawdopodobnie ze względu na zwiększoną konkurencję wewnątrzgatunkową. Jednak całkowity plon oleju z hektara nie został znacząco zagrożony, co sugeruje, że gęstsze obsady, pomimo produkcji nieco mniejszych nasion, zachowały zdolność akumulacji oleju. Odzwierciedla to zdolności adaptacyjne i przydatność odmiany do przemysłowej produkcji oleju w ramach zarządzania ekologicznego.

Wyniki te są zgodne z wcześniejszymi doniesieniami na temat jednopiennych odmian konopi siewnych, w których większy rozmiar nasion koreluje z wyższą zawartością oleju [Tang et al. 2016] [Yazici, Mirze 2025]. Względna stabilność zawartości oleju przez trzy sezony wegetacyjne podkreśla potencjał odmiany 'Henola' jako rośliny przemysłowej o podwójnym przeznaczeniu, oferującej zarówno biomasa włóknistą, jak i wysokiej jakości olej odpowiedni do zastosowań kosmetycznych, spożywczych i niespożywczych, takich jak biosmary, biodiesel i kosmetyki techniczne.

Wydajność biometryczna roślin konopi poddanych konwersji organicznej ujawniła znaczące wzorce adaptacji morfologicznej i rozwoju nasion. We wszystkich latach badania gęstość roślin i wysokość roślin miały istotny wpływ na normę wysiewu, przy czym wyższa norma siewu ( $60 \text{ kg ha}^{-1}$ ) skutkowałą zwiększeniem populacji roślin (średnio  $71,7 \text{ szt. m}^{-2}$  w porównaniu z  $51,6 \text{ szt. m}^{-2}$  na  $40 \text{ kg ha}^{-1}$ ), ale zmniejszoną wysokością poszczególnych roślin (tab. 2). Ten kompromis odzwierciedla typową konkurencję wewnątrzgatunkową, w której gęstsze zadaszenia ograniczają przenikanie światła, co prowadzi do zmniejszenia wydłużenia i realokacji zasobów roślin [Hall et al. 2013] i [Yazici 2023].

Umiarkowana ujemna korelacja między zagęszczeniem roślin a wysokością ( $r = -0,43$ ) dodatkowo potwierdza plastyczność odmiany 'Henola' w odpowiedzi na stres związany z zatłoczeniem, przy czym zaobserwowano zmniejszenie o około  $1,07 \text{ cm}$  na każde 10 dodatkowych roślin na  $\text{m}^2$ . Jest to zgodne z wcześniejszymi doniesieniami na temat dostosowania morfologicznego konopi w zmiennych populacjach roślin [Struik et al. 2000] [Tang et al. 2016].

Zmienność zagęszczenia roślin ( $CV$  od  $18,5\%$  do  $55,8\%$ ) była najwyższa w najsuchszym roku (2024), co sugeruje, że nierównomierna wilgotność gleby i lokalna niejednorodność w warunkach wschodów mogą znacząco wpływać na jednorodność pola w gospodarce ekologicznej. Wyniki te podkreślają znaczenie precyzyjnych strategii siewu i ochrony wilgoci w systemach organicznych o zmniejszonej elastyczności nakładów.

Rozkład wielkości nasion wykazywał dużą wrażliwość zarówno na gęstość siewu, jak i warunki sezonowe. Znaczna gęstość interakcji  $\times$  lata wskazała, że większe nasiona ( $>2,8$  mm) były bardziej rozpowszechnione w 2022 r. przy wyższych wskaźnikach wysiewu, podczas gdy mniejsze frakcje nasion (2,2–2,5 mm) dominowały w suchych warunkach w 2024 r. Przesunięcia te prawdopodobnie odzwierciedlają zróżnicowany podział asymilacyjny spowodowany architekturą łanu i konkurencją o zasoby podczas napełniania nasion [Tang et al. 2016] [Yazici, Mirze 2025].

Integralność strukturalna produkcji nasion została zachowana, bez dowodów na załamanie reprodukcyjne lub pogorszenie jakości nasion przez trzy kolejne lata. Ta odporność jest szczególnie istotna w systemach monokulturowych, w których długotrwała presja może wpływać na alokację reprodukcyjną. Odmiana ‘Henola’, o zwartym pokroju i zrównoważonej dynamice wzrostu, wydaje się szczególnie odpowiednia do takich warunków, wykazując wysoki potencjał jednorodności nasion nawet w środowisku o ograniczonych zasobach [Citterio et al. 2003].

Podsumowując, dane empiryczne wyraźnie potwierdzają użyteczność konopi – zwłaszcza odmiany ‘Henola’ – jako uprawy o podwójnej funkcji, oferującej zarówno dostateczne plony, jak i naturalne możliwości kontroli zachwaszczenia. Jej skuteczność wynika z zamknięcia czasu, interakcji allelopatycznej, kompatybilności z pielęgnacją mechaniczną i zdolności adaptacji do systemów o niskim nakładzie wejściowym. Połączenie optymalnej gęstości siewu, terminowej uprawy i potencjalnego zarządzania pozostałościami allelopatycznym stanowi solidną strategię zwalczania chwastów w ekologicznej produkcji konopi.

Główną nowością tej części badania jest skupienie się na okresie przejściowym w certyfikacji ekologicznej. Zgodnie z definicją zawartą w rozporządzeniu UE 2018/848, a nie na systemach ekologicznych w stanie ustalonym. Śledząc wydajność agronomiczną, dynamikę chwastów i jakość oleju z nasion na całej osi czasu konwersji, badania dostarczają danych empirycznych, których wcześniej brakowało w przypadku jednopiennych konopi oleistych, w szczególności odmiany ‘Henola’. W przeciwieństwie do wcześniejszych badań ograniczonych do

warunków krótkoterminowych lub konwencjonalnych. Ta część pracy nad praktykami agronomicznymi integruje wymiar ekologiczny, regulacyjny i związany z wydajnością w holistyczne ramy. Wyniki wnoszą wkład w nowe zrozumienie, w jaki sposób gęstość siewu moduluje zarówno tłumienie chwastów, jak i jakość nasion w fazie przejściowej, wypełniając w ten sposób lukę między agronomią eksperymentalną a praktyczną zgodnością ekologiczną.

### **3.3.a.3. Możliwości wykorzystania nasion konopnych w przemyśle spożywczym**

Materiał zebrany z pól produkcyjnych posłużył do wytworzenia eksperymentalnych produktów na bazie nasion nieobłuszczonego i obłuszczonego na stanowisku badawczym opisanym w artykule Ambroziak, K.; Wenda-Piesik, A. Comparative Characterization of Hemp Seed Cakes from Dehulled and Hulled Cannabis sativa L. var. oleifera cv. ‘Henola’: Nutritional, Functional and Storage Stability Insights, <https://doi.org/10.3390/foods14091605>.

W przeprowadzonych badaniach wykazano, że technologia obłuszczenia nasion konopi wpływa znacząco na skład chemiczny makuchów. Makuch z nasion obłuszczonego DHC (dehulled hemp cake) zawierał istotnie więcej białka ogólnego (do 42,2%) i tłuszczu resztkowego (do 37,5%) przy jednocześnie niższej zawartości błonnika (6,9–8,0%) w porównaniu do makucho z nasion nieobłuszczonego HHC (hulled hemp cake), który cechował się wyższą zawartością błonnika surowego (37–41%) oraz węglowodanów ogółem (do 48,2%). DHC charakteryzował się również wyższą wartością energetyczną (512–540 kcal 100g<sup>-1</sup>), co wynika z większej koncentracji tłuszczu i przyswajalnych węglowodanów. Wskaźnik Totox dla obu wariantów po 6 miesiącach przekroczył wartość 15, co świadczy o postępującej degradacji tłuszczów w warunkach przechowywania, mimo zastosowania opakowań barierowych. Analizy mikrobiologiczne nie wykazały przekroczeń norm higienicznych, natomiast obserwowano nieco wyższe

poziomy drobnoustrojów w HHC, prawdopodobnie związane z obecnością łuski jako nośnika mikroflory środowiskowej.

### 3.3.b. Soja

#### 3.3.b.1. Wpływ warunków hydrotermalnych i długości wegetacji na plonowanie nasion soi nGMO

Wyniki wcześniejszych badań prowadzonych w warunkach Polski Centralnej nad plonowaniem różnych odmian soi, opisane przez Wenda-Piesik i Ambroziak (2022) <https://doi.org/10.3390/app12157830>, umożliwiły wytypowanie najlepiej dostosowanej do uprawy w systemie płuznym odmiany. Retrospektywna analiza potwierdza trafność wyboru soi 'Abaca', która od 2022 roku znajduje się na Liście Odmian Zalecanych (LOZ) dla województwa kujawsko-pomorskiego, gdzie kontynuowano dalsze badania nad ekologizacją technologii uprawy soi będące podstawą niniejszej dysertacji.

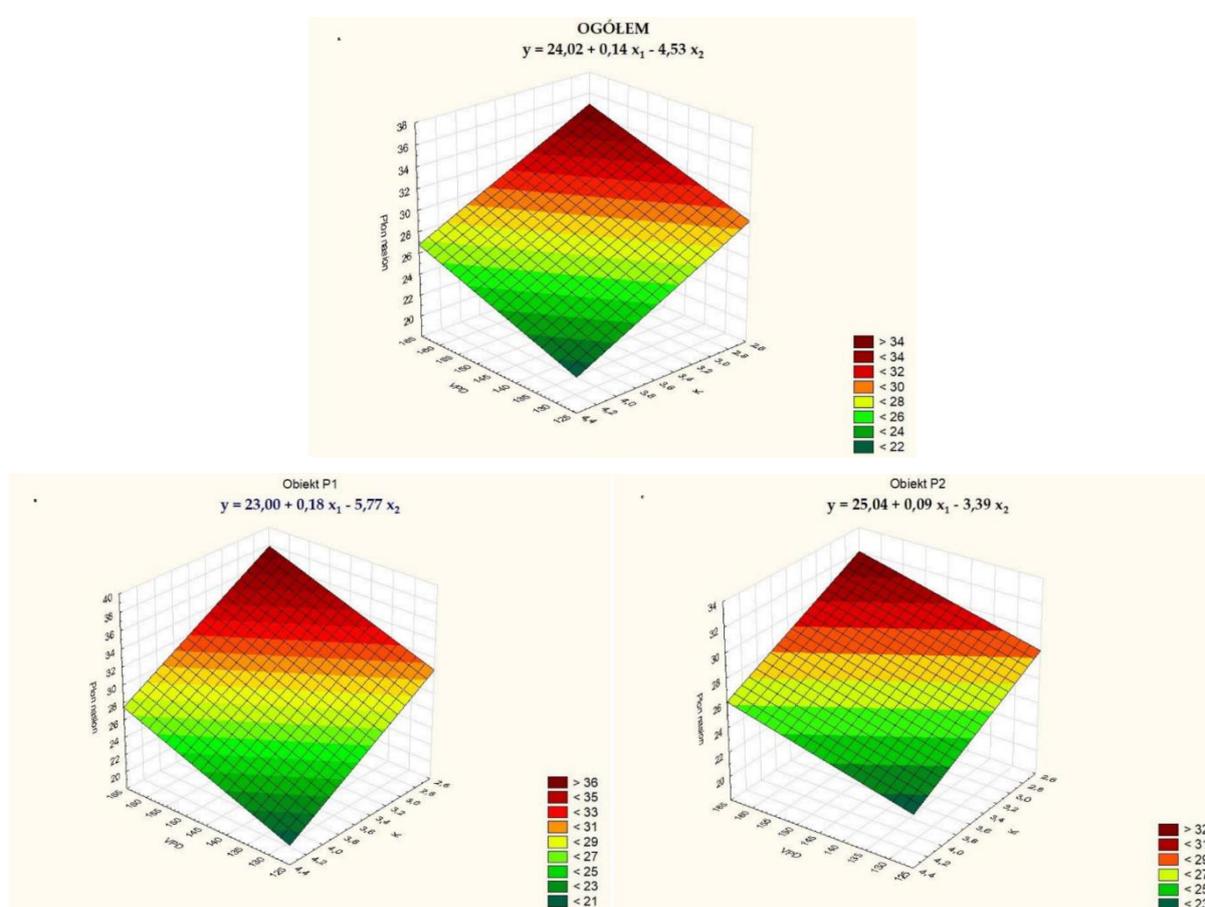
Znaczącym ułatwieniem w zakresie doboru odmian dla producentów było wprowadzenie przez Centralny Ośrodek Badań Odmian Roślin Uprawnych (COBORU) ujednoliconej nomenklatury wczesności odmian w skali 1–9, dopasowanej do warunków poszczególnych regionów Polski. Rekomendacje zawarte w LOZ, aktualizowane corocznie, wspierają efektywny wybór spośród 44 krajowych odmian dostępnych w momencie opracowywania tej rozprawy. Pomimo poszerzającej się oferty odmian, stres suszy pozostaje kluczowym czynnikiem ograniczającym produkcję, istotnym zarówno przy doborze odmiany, jak i terminie siewu [COBORU 2024].

W warunkach Polski Centralnej adaptacja termiczna odmian soi nie stanowi obecnie istotnego ograniczenia, jednak wahania opadowe, zwłaszcza deficyt wody w okresie krytycznym dla kwitnienia i zawiązywania strąków, mają istotny wpływ na efektywność produkcji. Dlatego do oceny sezonowych warunków pogodowych zastosowano współczynnik hydrotermalny (K), integrujący temperaturę powietrza i sumę opadów, który stanowi syntetyczny wskaźnik kondycji agrometeorologicznej w okresie wegetacji. W literaturze krajowej przykład zastosowania K oraz oceny wpływu systemu uprawy przedstawili [Gawęda et al. 2020], którzy na podstawie badań prowadzonych w południowo-wschodniej Polsce w latach 2014–2017 wykazali, że uprawa konwencjonalna soi (z orką) prowadziła do plonu wyższego o 10,3% niż w uprawie bezorkowej. Jednocześnie plon w monokulturze był o 5% niższy niż w płodozmianie.

W badaniach własnych, obejmujących sześć lokalizacji o zróżnicowanych warunkach glebowych i hydrotermalnych, prowadzonych na dwudziestu odmianach soi w płodozmianie, zaobserwowano bardziej złożony wzorzec zależności między systemem uprawy a wartością współczynnika K. W systemie bezorkowym plon soi wzrastał systematycznie wraz ze wzrostem wartości K (odpowiednio o 32,3% i 22,4% w sezonach wilgotniejszych), podczas gdy w systemie płuznym wzrost plonów notowano jedynie przy przejściu z warunków optymalnych do wilgotnych (wzrost o 22,1%). Wyniki te wskazują na większą elastyczność adaptacyjną uprawy bezorkowej w obliczu zmiennych warunków wodnych.

W rejonach charakteryzujących się deficytem opadów, kluczowe znaczenie mają techniki uprawowe ograniczające straty wody z gleby i zwiększające efektywność retencji. Uprawa konserwująca, polegająca na eliminacji odwracania gleby poprzez zastosowanie narzędzi bezpłużnych, wykazuje duży potencjał retencyjny. Badania wykazały, że praktyki takie są szczególnie efektywne w warunkach suchych, gdzie plony bywają porównywalne, a nawet wyższe niż w systemie konwencjonalnym [Pittelkow et al. 2015]. Postęp hodowlany w zakresie plonowania odmian soi został szczegółowo opisany przez [Umburanas et al. 2022] w odniesieniu do 26 odmian w południowej Brazylii. Odnotowano średnie tempo wzrostu plonu wynoszące 45,9 kg ha<sup>-1</sup> rocznie, co stanowiło względny przyrost na poziomie 2,1%. Wzrost ten przypisano zwiększeniu liczby nasion na m<sup>2</sup>, wyższemu indeksowi zbioru, zmniejszonej podatności na wyleganie oraz wypadaniu roślin. Z kolei badania amerykańskie wskazują, że głównymi czynnikami

abiotycznymi wpływającymi na plonowanie soi są promieniowanie słoneczne oraz dostępność wody z opadów [Salmerón, Purcell 2016]. Jednocześnie podkreśla się, że opóźnienie terminu siewu prowadzi do znacznych strat plonu – szacowanych od 0,09% do 1,7% dziennie. Choć odmiany uprawiane w USA i Brazylii należą do grupy GMO i ich cech technologicznych nie można bezpośrednio odnosić do soi niemodyfikowanej (nGMO), to jednak niektóre zjawiska fizjologiczne – takie jak podatność na wyleganie czy reakcja na opóźniony siew – pozostają wspólne. Krajowe obserwacje polowe potwierdzają, że zbyt późny termin siewu znacząco obniża plonowanie również w przypadku odmian nGMO uprawianych w Polsce [Serafin-Andrzejewska et al. 2021]. Z uwagi na złożoność czynników determinujących plon soi, kontynuowano badania w latach 2021–2024, prowadząc uprawę w systemie orkowym oraz w warunkach monokultury. W analizie uwzględniono liczbę dni wegetacji VPD oraz wartość współczynnika K, jako czynniki wpływające na plonowanie soi w warunkach zmiennego przebiegu pogody w okresie wegetacyjnym (rys. 6).



**Rys. 6.** Zależność plonu nasion ( $\text{dt ha}^{-1}$ ) od długości wegetacji VPD (dni) odmiany soi ‘Abaca’ w latach 2021-2024 i od współczynnika hydrotermalnego K, gdzie: Y – Plon nasion,  $X_1$  – VPD,  $X_2$  – K

W doświadczeniu porównano dwa systemy uprawy soi odmiany ‘Abaca’, tj. proekologiczny (P1), oraz konwencjonalny (P2), oparty wyłącznie na chemicznej ochronie herbicydowej, bez mechanicznej regulacji zachwaszczenia.

W obu wariantach stosowano tę samą normę wysiewu, nawożenie mineralne, oraz identyczne terminy siewu i zbioru. Szczegóły metodyczne są opisane w publikacji *Appl. Sci.* **2025**, *15*(15), 8154; <https://doi.org/10.3390/app15158154>

W przeprowadzonych analizach stwierdzono wyraźną zależność plonu nasion soi odmiany ‘Abaca’ od długości okresu wegetacji (VPD) oraz od współczynnika hydrotermalnego K.

Modele regresji dla systemów P1 i P2 oraz model zbiorczy wykazały dodatni wpływ VPD i ujemny wpływ K na wysokość plonu.

Największy wpływ VPD zaobserwowano w systemie P1, gdzie przyrost plonu wynosił 0,18 dt ha<sup>-1</sup> na każdy dodatkowy dzień wegetacji. W systemie P2 wartość ta była niższa (0,09 dt ha<sup>-1</sup>), co może wskazywać na mniejszą zależność tej praktyki agrotechnicznej od długości sezonu. W modelu zbiorczym uogólnionym wpływ VPD wynosił średnio 0,14 dt ha<sup>-1</sup> dziennie. Wyniki te są spójne z wcześniejszymi ustaleniami, gdzie dla warunków Polski centralnej uzyskano model regresji wielokrotnej:

$$Y = 21,8 + 12,0 \cdot K + 0,20 \cdot VPD \quad (R = 0,67, p < 0,001)$$

potwierdzając istotną dodatnią korelację pomiędzy długością sezonu wegetacyjnego a plonowaniem soi [Wenda-Piesik, Ambroziak 2022]. Wpływ współczynnika hydrotermalnego K na plon nasion 'Abaca' okazał się ujemny na plonowanie nasion w latach badań 2021-2024, przy czym większą wartość ujemną odnotowano w systemie P1 (-5,77 dt ha<sup>-1</sup> na jednostkę K), a mniejszą w praktyce agrotechnicznej P2 (-3,39 dt ha<sup>-1</sup>) co sugeruje istotny wpływ praktyki pielęgnacji mechanicznej na prześlalność gleby i jej możliwe zaleganie w strefie korzeniowej po intensywnych opadach. W modelu ogólnionym efekt ten wynosił -4,53. Jest to wynik odwrotny do trendu wykazanego we wcześniejszej publikacji, gdzie wartości K w zakresie 2,5-3,5 były dodatnio skorelowane z plonem soi [Wenda-Piesik, Ambroziak 2022]. W lokalizacji, gdzie prowadzono badania w latach 2021-2024 wartości K były wyraźnie wyższe niż zakres optymalny: 4,25 (2021), 3,49 (2022), 2,69 (2023), 2,91 (2024). W szczególności w latach 2021 i 2022 przekroczony został próg 3,5, co może tłumaczyć negatywny wpływ nadmiernej wilgotności na plon nasion soi. Zjawiska takie jak przewilgotnienie gleby, obniżenie natlenienia strefy korzeniowej, zahamowanie mineralizacji azotu i wzrost presji patogenów mogą stanowić ograniczenie plonotwórczości pomimo wysokich sum opadów. Negatywny wpływ zbyt wysokiej wilgotności na plon soi potwierdzają również [Ryabukha et al. 2022], którzy w warunkach wschodnioeuropejskich wykazali dodatnią korelację plonu z wilgotnością względną i opadami, lecz jednocześnie silną ujemną korelację z temperaturą i sumą efektywnych temperatur. Ich model potwierdza, że nadmiar ciepła lub wody może ograniczać plonowanie soi, nawet w warunkach dobrej wilgotności atmosferycznej [Ryabukha et al. 2022]. Podsumowując tę sekcję należy podkreślić, że uzyskane wyniki potwierdzają korzystny wpływ długości okresu wegetacyjnego (VPD) na plonowanie soi oraz wskazują, że zbyt wysokie wartości współczynnika hydrotermalnego K mogą mieć negatywny wpływ na plon w warunkach klimatycznych Polski centralnej.

### **3.3.b.2. Produkcyjność soi nGMO uprawianej w monokulturze w zależności od sposobu zwalczania chwastów**

W badaniach plantacji soi prowadzonych w latach 2021-2024 analizowano wpływ przyjętego systemu uprawy na zachwaszczenie oraz morfologię roślin i architekturę ładu. Stosowanie reżimu ochrony przeciw chwastom różniło się między sezonami, przy czym z każdym rokiem system uprawy P1 (proekologiczny) coraz bardziej opierał się na mechanicznym odchwaszczaniu, w przeciwieństwie do systemu P2 (konwencjonalnego), w którym dominowały zabiegi chemiczne (tab. 5).

W systemie P1 zwalczanie chwastów po wschodach prowadzono mechanicznie, dwukrotnie w sezonie wegetacyjnym, z wykorzystaniem brony wirnikowej, zgodnie z opisem w metodyce. Herbicydy stosowano wyłącznie przedwschodowo oraz sporadycznie powschodowo, zgodnie z zasadami praktyki proekologicznej. Natomiast w systemie P2 zwalczanie chwastów polegało na wyłącznym stosowaniu herbicydów, zarówno w fazie przedwschodowej, jak i w trakcie wegetacji, bez udziału metod mechanicznych.

Monitorowano zagęszczenie roślin po wschodach i przed zbiorem (szt. m<sup>-2</sup>), wysokość roślin (cm) oraz liczbę strąków na roślinie. Biometryczne pomiary przeprowadzono na 10 losowo wybranych roślinach z każdego powtórzenia. Plon ziarna przeliczano przy standardowej wilgotności 13%. Masę tysiąca nasion (MTN, g) oznaczano manualnie w trzech powtórzeniach.

W obu systemach do ochrony przedwschodowej wykorzystywano metrybuzynę i S-metolachlor, które w 2024 roku zostały zastąpione przez petoksamid i chlomazon z uwagi na zmiany regulacyjne. Zastosowanie herbicydów powschodowych obejmowało kombinację bentazonu i imazamoksu, stosowaną w zależności od presji chwastów (tab. 5).

Soja uprawiana w systemie P1 konsekwentnie wykazywała większą wysokość roślin oraz wyższą liczbę strąków, co można wiązać ze zwiększonym rozwojem wegetatywnym wspieranym przez mechaniczne odchwaszczanie oraz wcześniejszy termin siewu (tab. 5).

**Tabela 5.** Podsumowanie praktyk zwalczania chwastów dla uprawy soi ‘Abaca’ w latach 2021–2024, kluczowe daty

Rok	System uprawy	Herbicydy przedwschodowe (g ha <sup>-1</sup> )	Herbicydy powschodowe (g ha <sup>-1</sup> )	Pielenie mechaniczne	Data siewu	Data zbioru
2021	P1	Metrybuzyna 200 + S-metolachlor 960	brak	2×	11 maja	30 października
	P2	Metrybuzyna 200 + S-metolachlor 960	brak	Brak	11 maja	30 października
2022	P1	Metrybuzyna 200 + S-metolachlor 960	1× Bentazon 600 + Imazamox 28	2×	05 maja	1 października
	P2	Metrybuzyna 200 + S-metolachlor 960	1× Bentazon 600 + Imazamox 28	Brak	05 maja	1 października
2023	P1	Metrybuzyna 200 + S-metolachlor 960	2× Bentazon 300 + Imazamox 14	2×	22 kwietnia	22 września
	P2	Metrybuzyna 200 + S-metolachlor 960	2× Bentazon 300 + Imazamox 14	Brak	22 kwietnia	22 września
2024	P1	Metrybuzyna 240 + Klomazon 48 + Petoksamid 800	4× Bentazon 150 + Imazamox 7	2×	27 kwietnia	9 września
	P2	Metrybuzyna 240 + Klomazon 48 + Petoksamid 800	4× Bentazon 150 + Imazamox 7	Brak	27 kwietnia	9 września

Wyniki te są zbieżne z obserwacjami [Karges et al. 2022], którzy podkreślili znaczenie dostosowania terminu siewu i dojrzałości odmian do lokalnych warunków fototermicznych. W niniejszym badaniu nie można wykluczyć, że drobne uszkodzenia mechaniczne powodowane przez brony rotacyjne sprzyjały rozwojowi kompensacyjnemu, co zostało wcześniej zaobserwowane przez [Toleikiene et al. 2021].

**Tabela 6.** Cechy biometryczne i plonotwórcze soi ‘Abaca’ uprawianej w dwóch systemach, średnie z lat 2021–2024

Rok	System uprawy	Obsada BBCH 50 (szt. m <sup>-2</sup> )	Obsada BBCH 85 (szt. m <sup>-2</sup> )	Liczba strąków na roślinie BBCH 85	Wysokość roślin (cm)	Plon przeliczony do wilg. 13% (dt ha <sup>-1</sup> )	MTN (g)
2021	P1 <sup>z</sup>	55,10 ± 2,20 <sup>b,*</sup>	50,20 ± 2,00 <sup>a</sup>	29,90 ± 3,05 <sup>a</sup>	74,90 ± 11,30 <sup>a</sup>	30,20 ± 0,20 <sup>a</sup>	223,20 ± 5,12 <sup>a</sup>
	P2	62,30 ± 2,49 <sup>a</sup>	48,80 ± 1,96 <sup>a</sup>	31,00 ± 3,20 <sup>a</sup>	70,50 ± 12,02 <sup>b</sup>	28,60 ± 0,20 <sup>b</sup>	201,30 ± 5,40 <sup>b</sup>
2022	P1	49,60 ± 1,98 <sup>a</sup>	48,60 ± 1,94 <sup>a</sup>	30,30 ± 2,85 <sup>a</sup>	60,90 ± 8,80 <sup>a</sup>	21,20 ± 0,14 <sup>a</sup>	192,60 ± 4,80 <sup>a</sup>
	P2	50,20 ± 2,00 <sup>a</sup>	43,80 ± 1,75 <sup>b</sup>	27,10 ± 3,10 <sup>b</sup>	60,30 ± 7,60 <sup>a</sup>	20,40 ± 0,15 <sup>a</sup>	180,70 ± 4,30 <sup>b</sup>
2023	P1	52,40 ± 2,09 <sup>a</sup>	50,20 ± 2,00 <sup>a</sup>	30,50 ± 4,12 <sup>a</sup>	74,90 ± 7,19 <sup>a</sup>	30,40 ± 0,22 <sup>a</sup>	215,10 ± 4,80 <sup>a</sup>
	P2	53,60 ± 2,14 <sup>a</sup>	49,30 ± 1,97 <sup>a</sup>	30,60 ± 4,00 <sup>a</sup>	71,90 ± 8,30 <sup>b</sup>	27,20 ± 0,21 <sup>b</sup>	205,30 ± 4,60 <sup>b</sup>
2024	P1	58,20 ± 2,32 <sup>b</sup>	57,40 ± 2,30 <sup>a</sup>	36,50 ± 3,60 <sup>a</sup>	87,70 ± 12,40 <sup>a</sup>	35,60 ± 0,20 <sup>a</sup>	220,70 ± 5,30 <sup>a</sup>
	P2	62,40 ± 2,49 <sup>a</sup>	57,70 ± 2,30 <sup>a</sup>	34,40 ± 3,18 <sup>b</sup>	81,90 ± 13,10 <sup>b</sup>	33,40 ± 0,20 <sup>b</sup>	215,40 ± 5,10 <sup>a</sup>

<sup>z</sup> P1 – powszchodowe mechaniczne odchwaszczanie broną wirnikową, P2 – konwencjonalne zwalczanie chwastów na bazie herbicydów bez mechanicznego odchwaszczania. \* – małe litery indeksu górnego (a, b) wskazują na istotne różnice między P1 i P2 w ciągu każdego roku zgodnie z testem HSD Tukeya ( $p = 0,05$ ).

Chociaż w niektórych sezonach (2021 i 2024) system P2 charakteryzował się wyższym zagęszczeniem roślin po wschodach, system P1 wykazywał stabilniejsze wartości gęstości przed zbiorem i korzystniejsze parametry plonowania. W 2022 i 2024 roku niskie sumy opadów w maju (odpowiednio 36,5 mm i 8,0 mm) oraz wyższe temperatury przyczyniły się do zakłóceń we wczesnym rozwoju, prawdopodobnie skracając czas trwania faz fenologicznych R1–R7. Ograniczyło to możliwość gromadzenia biomasy asymilacyjnej i napełniania strąków. Odwrotnie, w 2021 i 2023 roku, chłodniejsze i bardziej wilgotne warunki sprzyjały wydłużeniu poszczególnych faz rozwojowych, co przełożyło się na wyższe plony, szczególnie w systemie P1. Najniższe plony odnotowano w 2022 roku, co zbiegło się z opóźnionym siewem i suszą w okresie kwitnienia. Wysokie temperatury i deficyt wody negatywnie wpływają na procesy nodulacji i biologicznego wiązania azotu [He et al. 2014], [Goswami 2020]. Wyniki uzyskane w niniejszym badaniu potwierdzają te obserwacje, dokumentując spadki plonów w najbardziej krytycznych fenofazach.

Z kolei w 2023 i 2024 roku zauważono odbudowę plonów w wyniku wcześniejszego siewu i korzystniejszego rozkładu opadów [Kurosaki, Yumoto 2003], [Setiyono et al. 2007]. Zmienność wyników plonowania w okresie 2021–2024 jednoznacznie wskazuje na dominujący wpływ warunków klimatycznych na rozwój soi. Jak podkreślają [Setiyono et al. 2007], temperatura i długość dnia są głównymi regulatorami fenologii; ich wzrost przyspiesza rozwój i może ograniczać plon, jeśli skrócone zostaną fazy krytyczne, takie jak kwitnienie i wypełnianie nasion. [Matthews et al. 2022] również wskazali, że w warunkach klimatu umiarkowanego zmienność wilgotności i temperatury wpływa istotnie na efektywność plonowania.

W analizowanych sezonach, różnice plonów między systemami P1 i P2 w latach 2021 i 2024 wynosiły od 1,5 do 2,0 dt ha<sup>-1</sup> (tab. 6). Ponadto, mechaniczne odchwaszczanie w systemie P1 przyczyniło się do uzyskania wyższej MTN, zwłaszcza w 2024 roku – sezonie o

podwyższonym deficycie wodnym. Kombinacja technik mechanicznych oraz ograniczonego, precyzyjnego stosowania herbicydów w systemie P1 okazała się skuteczna w ograniczaniu zachwaszczenia. Jest to zgodne z doniesieniami [Tataridas et al. 2022] oraz [Winkler et al. 2022], którzy wskazują metody mechaniczne jako wartościową alternatywę dla glifosatu w kontekście założeń Europejskiego Zielonego Ładu.

Perspektywicznie, rozwój technologii opartych na sztucznej inteligencji stwarza możliwości automatyzacji mechanicznego odchwaszczania. Nowoczesne systemy optycznej detekcji i eliminacji chwastów w fazie siewki za pomocą technologii laserowej mogą stać się kluczowym narzędziem w precyzyjnym rolnictwie przyszłości [Sun et al. 2024]. Parametry plonu oraz właściwości produktów uzyskanych z systemów P1 i P2 zostały szczegółowo przeanalizowane w publikacji: <https://doi.org/10.3390/app15158154>.

Podsumowując, uzyskane wyniki wskazują, że oba systemy uprawy umożliwiają uzyskanie nasion o stabilnym składzie chemicznym. Istotne jest jednak, że proekologiczny system P1, oparty na integrowanych praktykach agrotechnicznych, wykazał potencjał do utrzymania jakości nasion przy jednoczesnym ograniczeniu chemizacji, co pozostaje spójne z założeniami strategii Europejskiego Zielonego Ładu i polityki „od pola do stołu”. Zbieżność uzyskanych wyników z wcześniejszymi badaniami fenotypowania polowego [Wenda-Piesik, Ambroziak 2022] dodatkowo wzmacnia ocenę odmiany ‘Abaca’ jako genotypu przydatnego do uprawy non-GMO w warunkach Europy Środkowej.

### **3.3.b.3. Regulacja zachwaszczenia w monokulturze soi nGMO w zależności od systemu ochrony przed chwastami**

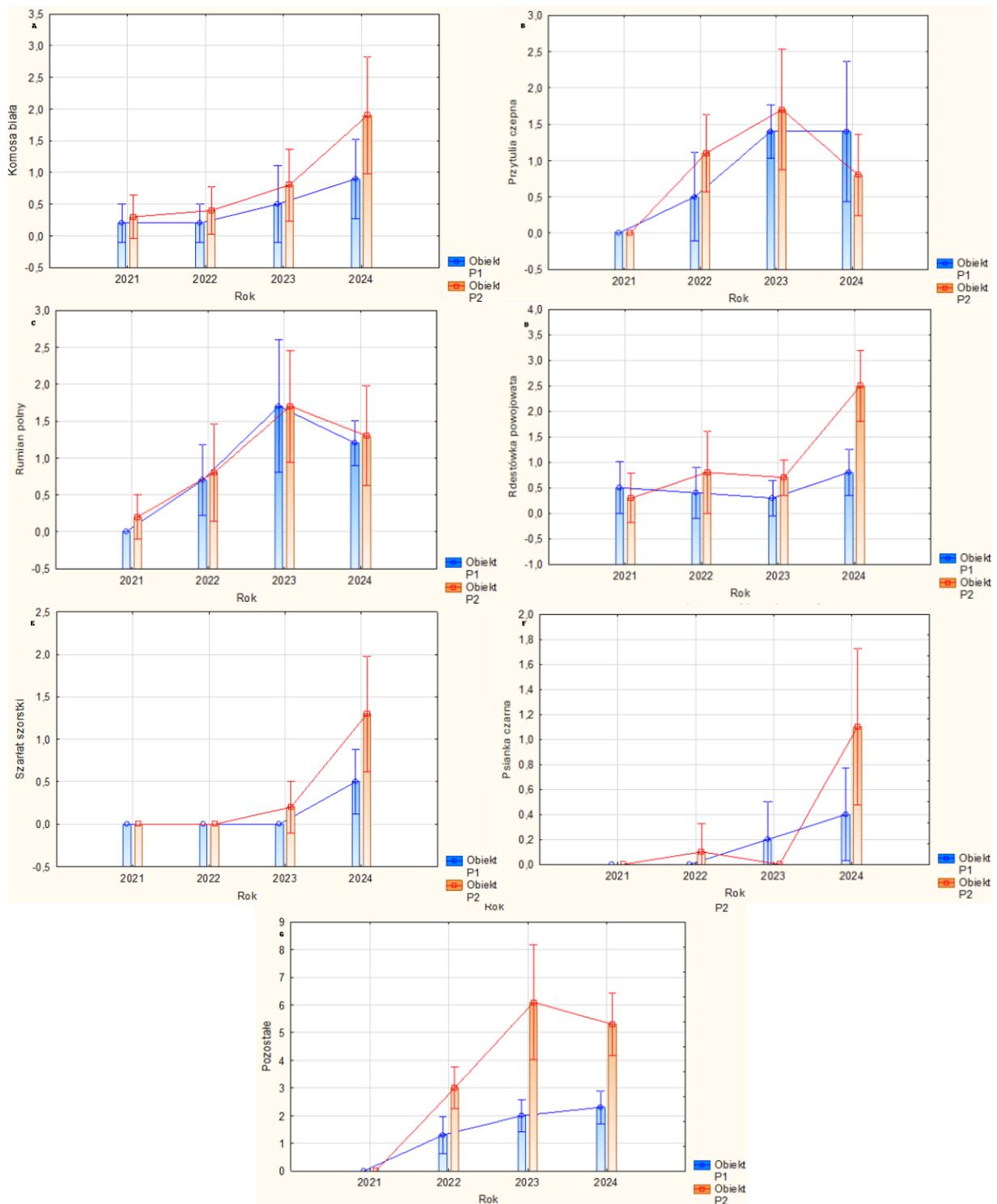
W badaniu porównano dwa systemy ochrony przed zachwaszczeniem w uprawie soi odmiany ‘Abaca’ Obiekt P1, łączący zabiegi chemiczne z pieleniem mechanicznym, oraz obiekt P2, oparty wyłącznie na ochronie chemicznej. Analiza danych z czterech sezonów wegetacyjnych (2021–2024) wskazała na znaczące różnice w kontroli populacji sześciu dominujących gatunków chwastów, w tym *Chenopodium album*, *Amaranthus retroflexus*, *Fallopia convolvulus*, *Galium aparine*, *Solanum nigrum*, określono również w sposób zbiorczy inne gatunki określając je wspólnym określeniem jako pozostałe.

System uprawy P1 był skuteczniejszy w ograniczaniu populacji większości analizowanych chwastów. Średnia liczebność komosy białej w P1 nie przekraczała 0,9 szt. m<sup>-2</sup>, podczas gdy w P2 w 2024 osiągała 1,9 szt. m<sup>-2</sup>. Podobnie rdestówka powojowata osiągała odpowiednio 0,8 i 2,5 szt. m<sup>-2</sup>. Dla grupy „pozostałe” chwasty w obiekcie P2 liczebność była już wielokrotnie wyższa niż w P1.

W systemie P1 uzyskiwano znacznie lepszą kontrolę nad liczebnością chwastów. Obiekt P2 był często nadmiernie zachwaszczony, szczególnie w sezonach 2023–2024, co wskazuje jednoznacznie na niedostateczną ochronę.

Jako przewagę systemu P1 należy wskazać nie tylko mechaniczne pielenie, ale także większą intensywność i lepsze dopasowanie terminów zabiegów powschodowych. W 2023 i 2024 roku w P1 wykonano nawet cztery zabiegi chemiczne w dawkach dzielonych, podczas gdy P2 ograniczał się najczęściej do dwóch. Zastosowanie tych samych substancji czynnych, ale w różnych strategiach, przyniosło znaczące różnice w efektywności. Takie wyniki są zgodne z literaturą. W badaniu [Datta et al. 2017] kombinacja mechanicznego pielenia i zredukowanego stosowania herbicydów w uprawie soi skutkowało znacznym obniżeniem presji chwastów przy jednoczesnym ograniczeniu nakładu chemicznego. Podobnie [Buhler et al. 1992] udowodnili, że strategie zintegrowane mogą zmniejszyć zużycie herbicydów o ponad 50%, zachowując efektywność ochrony. W badaniach [Chełtan et al. 2022] wskazano, że tradycyjne systemy uprawy (bez mechaniki) są związane z wyższym zachwaszczeniem, zwłaszcza chwastów jednorocznych dwuliściennych, podczas gdy integracja metod zwiększa stabilność i skuteczność zwalczania chwastów w różnych warunkach.

Ponadto, badanie opublikowane przez [Singh et al. 2023] jako meta-analiza 35 badań wykazało, że zmniejszenie szerokości rzędów (<76 cm) w uprawie soi zmniejszało gęstość chwastów o 42%, biomasę chwastów o 55% oraz zmniejszało produkcję nasion chwastów o 45%, jednocześnie zwiększając plon o ok. 12% [Singh et al. 2023]. Wskazuje to, że zabiegi agrotechniczne sprzyjające szybszemu zamknięciu się czaszy obsady (np. węższe rzędy, mechaniczne pielnie), które wspólnie z herbicydami znacznie zwiększają skuteczność ochrony.



Obiekt P1-system uprawy proekologiczny, Obiekt P2-system uprawy konwencjonalny

**Rys. 7.** Porównanie systemów doświadczalnych P1 i P2 pod względem liczby gatunków wybranych chwastów w szt. m<sup>-2</sup>

Wyniki te znajdują również potwierdzenie w literaturze dotyczącej produkcji integrowanej w tym zarządzania chwastami w uprawie soi. [Gerhards et al. 2024] wykazali, że połączenie zabiegów chemicznych z mechanicznymi jest skuteczniejsze niż każda metoda sama w sobie, również w odniesieniu do gatunków takich jak komosa biała i psianka czarna. Zintegrowane strategie pozwalają dodatkowo na redukcję zużycia herbicydów o 24–60%, przy zachowaniu plonowania porównywalnego do tradycyjnych systemów chemicznych. Podobne wnioski zawiera recenzja [Tehulie et al. 2021], wskazująca, że kombinacja metod mechanicznych i chemicznych sprzyja trwałemu ograniczeniu zachwaszczenia i umożliwia obniżenie dawek herbicydów [Tehulie et al. 2021].

Rozporządzeniem wykonawczym Komisji (UE) 2024/2806 z dnia 31 października 2024 r. w sprawie nieodnowienia zatwierdzenia substancji czynnej metrybuzyna substancja ta nie może obecnie być stosowana w uprawie soi ze względu na wykazanie negatywnego wpływu na układ hormonalny człowieka podczas jego aplikacji i będąc pod wpływem jego ekspozycji. Mając to na uwadze autor tej pracy do zwalczania chwastów dwuliściennych w podobnym spektrum działania co metrybuzyna i aplikacji dogłębowej sugeruje używanie substancji czynnej metbromuron. Jeśli opisywane tu praktyki herbicydowe miałyby być dalej kontynuowane doświadczalnie sugerowałabym wykonywać je z udziałem metbromuronu, chlomazonu, petoksamidu, imazamoksu i tifensufuronu. Wymieniona substancja tifensulfuron metylowy na wniosek Stowarzyszenia Polska Soja otrzymała rozszerzenie do stosowania w soi z dniem 30 maja 2025 roku. Stanowi to szerszą podstawę do redukcji powszodowego zachwaszczenia wtórnego w przypadku niepowodzenia wcześniejszych praktyk dogłębowych i pielenia mechanicznego.

### **3.3.b.4. Możliwości wykorzystania nasion soi w przemyśle spożywczym**

Omawiane doświadczenia jednoznacznie wskazują, że integrowana uprawa soi ma zdolność do stabilizacji plonu i akumulacji jakościowych składników odżywczych w różnych sezonach wegetacyjnych. Pokazuje to, że połączenie uprawy proekologicznej (P1) z kontrolowanym przetwarzaniem barotermicznym może dostarczyć bogate w białko produkty sojowe, które są odporne na wahania klimatyczne. Odporność ta jest szczególnie istotna w regionach Europy Środkowej i Wschodniej, gdzie epizody suszy przeplatane z nadmiernymi epizodycznymi ulwewami oraz zmienność fototermiczna stają się coraz częstsze ze względu na zmianę klimatu [Hou et al. 2025] (51).

Na poziomie hodowlanym obserwowana międzyroczna zmienność plonów i składu podkreśla również ciągłą potrzebę selekcji i rozwoju genotypów soi zoptymalizowanych pod kątem środkowoeuropejskich warunków agroklimatycznych, z cechami zarówno dla wydajności agronomicznej, jak i stabilności składu przydatnej na cele paszowe i spożywcze [Wenda-Piesik, Ambroziak 2022] [Qiu et al. 2013].

Reasumując, proponowana platforma przetwarzania o obiegu zamkniętym stanowi skalowalną i przyjazną dla środowiska alternatywę dla konwencjonalnych łańcuchów dostaw soi, łącząc produkcję pierwotną, przetwarzanie funkcjonalne i innowacje w żywności zorientowane na zdrowie. Jego wdrożenie przynosi korzyści zarówno ekonomiczne, jak i ekologiczne, przyczyniając się do powstania odpornych systemów białkowych, zdolnych do sprostanania przyszłym globalnym wyzwaniom związanym z białkami.

Badanie to ma jednak pewne ograniczenia. Badania polowe przeprowadzono z wykorzystaniem pojedynczej odmiany soi ‘Abaca’, co może ograniczać możliwość uogólnienia wyników agronomicznych i składowych. Przyszłe badania powinny ocenić wiele genotypów w różnych warunkach agroklimatycznych, aby potwierdzić solidność i skalowalność proponowanego modelu przetwarzania dwuproduktowego.

### 3.3.c. Użyteczność uzyskanych produktów z nasion soi i konopi siewnych

#### 3.3.c.1. Skład chemiczny i wartość odżywcza

Produkty uzyskane w wyniku przetwarzania nasion soi i konopi, pomimo odmiennego pochodzenia botanicznego, wykazały porównywalne różnice w składzie chemicznym w zależności od zastosowanej technologii. Makuch z obłuszczonych nasion konopi (DHC) zawierał istotnie więcej białka ogólnego (41,6%) i tłuszczu resztkowego (37,5%) niż makuch z nieobłuszczonych nasion (HHC), który cechował się wyższą zawartością błonnika pokarmowego i ogólnej zawartości węglowodanów (41,3% i 48,2%, odpowiednio). Podobną zależność zaobserwowano w przypadku produktów sojowych – pełnotłusta soja (FFS) zawierała więcej tłuszczu (19,5%) i mniej białka (34,5%), natomiast ekspandowany makuch sojowy (ESC) charakteryzował się większą zawartością białka (38,1%) i mniejszą ilością tłuszczu (11,7%). Cechy składowe i funkcjonalne ESC – w szczególności jego czysty profil, wysoka zawartość białka i błonnika oraz stabilność oksydacyjna – sprawiają, że doskonale nadaje się do skalowalnej integracji ze zrównoważonymi łańcuchami żywnościowymi i paszowymi.

Cechy te bezpośrednio wspierają cele polityki UE w zakresie samowystarczalności białkowej, zmniejszenia zależności od importu soi GMO oraz modeli biogospodarki o obiegu zamkniętym w ramach Zielonego Ładu i strategii „od pola do stołu”. ESC wpisuje się również w rosnące zapotrzebowanie branży na funkcjonalne składniki pochodzenia roślinnego, które umożliwiają innowacje w zakresie analogów mięsa, żywienia sportowców i preparatów terapeutycznych [Tataridas et al. 2022].

Wysoka zawartość białka i stosunkowo niska zawartość błonnika w DHC oraz ESC wskazują na ich potencjał jako komponentów żywieniowych, szczególnie w dietach młodych zwierząt i monogastryków. W badaniach [Mendoza-Pérez et al. 2024] wykazano, że wysokobiałkowe produkty konopne mogą stanowić wartościową alternatywę dla śrutu sojowej w paszach monogastrycznych, a ich skuteczność zależy w dużej mierze od składu aminokwasowego oraz strawności białka.

#### 3.3.c.2. Profil kwasów tłuszczowych i stabilność oksydacyjna

Zarówno produkty konopne (DHC, HHC), jak i sojowe (ESC, FFS) charakteryzowały się wysokim udziałem wielonienasyconych kwasów tłuszczowych (PUFA). W DHC udział PUFA przekraczał 70%, a stosunek n-6:n-3 mieścił się w przedziale 3:1–4:1, co uznaje się za optymalne z punktu widzenia fizjologii żywienia człowieka i zwierząt [Karabulut et al. 2023]. Profil ten potwierdza wcześniejsze obserwacje, że obłuszczenie konopi sprzyja uzyskaniu większego udziału lipidów i korzystniejszej jakości tłuszczów dzięki redukcji frakcji włóknistych bogatych w związki antyodżywcze [Leonard et al. 2021].

W przypadku ESC udział PUFA był niższy (~60%) niż w DHC, co może wynikać z obecności większej frakcji białkowo-włóknistej po tłoczeniu, lecz zachowany został korzystny skład jakościowy – szczególnie wysoka zawartość kwasu linolowego (C18:2n-6) zgodna z wcześniejszymi badaniami nad produktami soi przetwarzanymi termicznie [Kamle et al. 2024].

W obu grupach produktów odnotowano pogorszenie parametrów oksydacyjnych w czasie przechowywania. Indeks Totox dla DHC i FFS po 6 miesiącach przekraczał wartość 15, co wskazuje na zaawansowany etap autooksydacji tłuszczów. Wysoka zawartość PUFA zwiększa podatność na utlenianie, co jest zgodne z obserwacjami [Leonard et al. 2019] dotyczącymi produktów z olejem konopnym oraz z wnioskami [Dąbrowski, Skrajda-Brdak 2016], którzy rekomendują zastosowanie technologii ochronnych (np. inertyzacja, pakowanie próżniowe, dodatki antyoksydantów naturalnych) w celu wydłużenia trwałości produktów o wysokiej zawartości tłuszczów nienasyconych.

### 3.3.c.3. Czynniki antyodżywcze i strawność

Produkty ESC i DHC zawierały istotnie mniej kwasu fitynowego oraz oligosacharydów typu RFO w porównaniu do FFS i HHC. Zjawisko to wynika z zastosowania technologii ekspandowania (w przypadku ESC) oraz obłuszczenia (w przypadku DHC), które skutecznie redukują frakcje antyodżywcze. W przypadku soi, proces barotermiczny prowadzony w warunkach parowo-ciśnieniowych przy 95–98 °C przez 13,3 min, z następującą ekspandacją, znacząco obniżał aktywność inhibitorów trypsyny oraz zawartość PA, przy jednoczesnym zachowaniu wysokiej wartości wskaźnika PDI, co sprzyja poprawie strawności białka.

Ekspandowanie soi, prowadzone przy umiarkowanej wilgotności i temperaturze powyżej 100 °C, szybko i skutecznie redukuje aktywność ureazy oraz termolabilnych inhibitorów trypsyny dzięki denaturacji białek i częściowej żelatynizacji skrobi. Jednocześnie modyfikuje strukturę ścian komórkowych (np. poprzez rozluźnienie matrycy polisacharydowej), co poprawia biodostępność składników odżywczych i strawność białka. To powoduje wzrost wskaźników takich jak PDI i jego przyswajalność w organizmach monogastrycznych [Kim et al. 2025] [Luo et al. 2025].

Z kolei obłuszczenie nasion konopi prowadziło do zmniejszenia udziału frakcji włókna surowego i związanego z nim PA oraz RFO, a także do wzrostu zawartości białka ogólnego i węglowodanów przyswajalnych w makuchu DHC. Wyniki te są spójne z wcześniejszymi doniesieniami wskazującymi, że obróbka mechaniczno-termiczna nasion roślin oleistych i strączkowych – w tym prażenie, ekstruzja i ekspandowanie – prowadzi do rozkładu termolabilnych inhibitorów enzymów, degradacji lub wypłukiwania fitynianów, a także do hydrolizy części oligosacharydów z rodziny rafinozy. W szczególności obłuszczenie pozwala na eliminację fitynianów i inhibitorów proteaz skoncentrowanych w zewnętrznych warstwach nasion, co poprawia strawność białek (np. w nasionach konopi strawność białka wzrastała z ok. 85% do 97,5% po usunięciu łuski)[Mattila et al. 2018], [Burton et al. 2022].

### 3.3.c.4. Jakość mikrobiologiczna i sensoryczna

Makuchy sojowe i konopne charakteryzują się długotrwałą mikrobiologiczną stabilnością, co potwierdzają zarówno badania własne (ESC, FFS, DHC, HHC), jak i wyniki innych autorów, wskazujące na brak patogenów (*Salmonella*, *S. aureus*, *Enterobacteriaceae*) oraz niewielki wzrost liczby drobnoustrojów tlenowych i drożdży w okresie do 6 miesięcy przechowywania, mieszczący się w obowiązujących normach jakości żywności. Stabilność oksydacyjna, potwierdzona m.in. przez [Feng et al. 2022], pozostaje na akceptowalnym poziomie w produktach o umiarkowanej zawartości oleju.

Parametry sensoryczne, takie jak barwa, tekstura i zapach, pozostają stabilne przez okres przechowywania, co jest zgodne z obserwacjami [Kotecka-Majchrzak et al. 2021], którzy wykazali, że dodatek makuchu konopnego do kotletów (0,9–7,4%) nie pogarsza, a w niektórych wariantach poprawia akceptację konsumencką podczas 10–12 dni przechowywania w chłodni.

Naturalny charakter makuchów sojowych i konopnych, wynikający z braku dodatków i konserwantów, jest czynnikiem zwiększającym ich akceptację przez konsumentów, co potwierdzają badania [Román et al. 2017], wskazujące, że brak intensywnego przetwarzania jest jednym z głównych elementów postrzeganej naturalności żywności, a także analizy PBAP (plant-based alternative products), które dowodzą, że konsumenci uznają takie produkty za zdrowsze i bardziej przyjazne środowisku [Pointke et al. 2022].

W odniesieniu do soi, Zhou i in. podkreślają, że jej roślinne pochodzenie i wysoka wartość białkowa sprzyjają pozytywnemu odbiorowi konsumenckiemu [Zhou et al. 2024]

### 3.4. PODSUMOWANIE

Zróznicowane strategie uprawy soi i konopi włóknistych w warunkach środkowoeuropejskich umożliwiają optymalizację plonu, jakości surowca oraz stabilności produkcji przy ograniczeniu chemizacji. Zastosowanie proekologicznych modeli agrotechnicznych, opartych na mechanicznym odchwaszczaniu i przemyślanej strategii siewu (P1), pozwalało utrzymać konkurencyjne plony w porównaniu z uprawą konwencjonalną, przy jednoczesnym wsparciu celów Europejskiego Zielonego Ładu w zakresie zrównoważonego rolnictwa.

W badaniach nad soją wykazano, że decyzje odmianowe oraz wybór systemu uprawy powinny uwzględniać zmienność warunków agroklimatycznych i przewidywane zmiany klimatu. Znaczenie miała zarówno reakcja odmian na rodzaj uprawy gleby (orka vs. bezorkowo), jak i adaptacja do lokalnych warunków temperaturowo-wodnych, które wpływały na zmienność plonowania, zawartość białka i oleju. Zintegrowane przetwórstwo nasion soi i konopi pozwala na efektywne wykorzystanie komponentów białkowych, lipidowych i włóknistych przy jednoczesnym zachowaniu ich trwałości i wartości odżywczych. Produkty pochodzące z ekspandowanego makuchu sojowego (ESC) oraz makuchów konopnych (szczególnie z obłuszczanych nasion – DHC) wykazały korzystne właściwości żywieniowe i funkcjonalne, stabilność mikrobiologiczną oraz potencjał zastosowania w przemyśle spożywczym i paszowym.

W systemach bez nawozów mineralnych i herbicydów, konopie odmiany ‘Henola’ wykazały wysoką konkurencyjność względem chwastów dzięki gęstemu siewowi i szybkiemu zwarciu ładu. Obserwowane efekty allelopatyczne, tłumienie chwastów nitrofilnych i stabilność biometryczna roślin potwierdzają ich przydatność w ekologicznych płodozmianach i systemach regeneratywnych.

Warunki przetwarzania, takie jak obłuszczenie i tłoczenie na zimno, w istotny sposób wpływały na właściwości makuchów konopnych, determinując ich końcowe zastosowanie. Obłuszczony makuch (DHC) był bogatszy w białko i olej, charakteryzował się niższą zawartością błonnika i większą stabilnością mikrobiologiczną, podczas gdy makuch niełuskany (HHC) zawierał więcej błonnika i charakteryzował się lepszą odpornością na pierwotne utlenianie lipidów.

Opracowane modele uprawy i przetwórstwa wspierają lokalną niezależność białkową i mogą być wdrażane w formie skalowalnych, zasobooszczędnych łańcuchów produkcji roślinnej i żywności funkcjonalnej. Zintegrowane podejście do zarządzania surowcem roślinnym umożliwia tworzenie wartości dodanej w warunkach zmienności pogodowej, zmniejszonego zużycia środków chemicznych i rosnących wymagań jakościowych.

Uzyskane wyniki stanowią istotny wkład w rozwój praktyk agrotechnicznych dla konopi włóknistych, podkreślając znaczenie gęstości siewu jako czynnika supresji chwastów oraz możliwości uprawy bez użycia herbicydów. Wyniki te mogą wspierać strategię Europejskiego Zielonego Ładu oraz wpisują się w kierunek redukcji chemizacji rolnictwa i produkcji żywności wysokiej jakości zgodnej z ideą „od pola do stołu”.

### 3.5. WNIOSKI

1. Odmiana soi ‘Abaca’ wykazała wysoką adaptacyjność do warunków Polski centralnej, zarówno w systemie orkowym, jak i bezorkowym, co potwierdza możliwość uzyskania plonów o wysokiej zawartości białka i oleju nawet przy ograniczonym nawożeniu azotowym i w warunkach okresowych niedoborów wody.
2. Zastosowanie hederu z kosą pływającą typu flex w zbiorze soi oraz klasycznego kombajnu klawiszowego w zbiorze konopi umożliwiło efektywne przeprowadzenie jednoetapowego zbioru, co stanowi istotne usprawnienie technologiczne dla niskich odmian obu gatunków.

3. Zwiększenie gęstości siewu konopi siewnych oraz mechaniczne pielenie soi znacząco ograniczyły zachwaszczenie plantacji, co potwierdza możliwość prowadzenia tych upraw z ograniczonym lub zerowym użyciem herbicydów w systemach proekologicznych.
4. W warunkach uprawy ekologicznej konopie odmiany 'Henola' wykazały stabilność plonowania i zdolność do samoregulacji zachwaszczenia, co czyni je wartościowym gatunkiem w płodozmianie dla gospodarstw ekologicznych.
5. Frakcjonowanie nasion konopi wykazało istotny wpływ wielkości frakcji na zawartość oleju, przy czym największe nasiona (>2,8 mm) zawierały najwięcej tłuszczu, co może stanowić podstawę do selekcji materiału nasiennego pod kątem jakości przetwórczej.
6. Obłuszczenie nasion konopi oraz ich tłoczenie na zimno istotnie wpływały na wartość odżywczą, funkcjonalność i trwałość makuchu konopnego, przy czym produkt z obłuszczonego nasion wykazywał korzystniejszy profil do zastosowań spożywczych.
7. Baro-termiczne przetwarzanie soi pozwoliło uzyskać dwa funkcjonalne komponenty – pełnotłustą soję i ekspandowany makuch – o stabilnym składzie białkowo-tłuszczowym i zredukowanej zawartości substancji antyodżywczych, co czyni je atrakcyjnymi składnikami pasz i żywności funkcjonalnej.
8. Uprawa soi i konopi w systemach ograniczających użycie nawozów i środków ochrony roślin, w połączeniu z opracowanymi metodami przetwórczymi, wpisuje się w założenia Europejskiego Zielonego Ładu oraz odpowiada na zapotrzebowanie rynku na lokalne, roślinne źródła białka o niskim śladzie węglowym.

## 4. LITERATURA

- Adesina I., Bhowmik A., Sharma H., Shahbazi A. 2020.** A Review on the Current State of Knowledge of Growing Conditions, Agronomic Soil Health Practices and Utilities of Hemp in the United States. *Agriculture*, 10 (4), 129. DOI: 10.3390/agriculture10040129
- Amaducci S., Scordia D., Liu F. H., Zhang Q., Guo H., Testa G., Cosentino S. L. 2015.** Key cultivation techniques for hemp in Europe and China. *Industrial Crops and Products*, 68, 2–16. DOI: 10.1016/j.indcrop.2014.06.041
- Basak M., Broadway M., Lewis J., Starkey H., Bloomquist M., Peszlen I., Davis J., Lucia L. A., Pal L. 2025.** A critical review of industrial fiber hemp anatomy, agronomic practices, and valorization into sustainable bioproducts. *BioResources*, 20 (2). DOI: 10.15376/biores.20.2.Basak
- Bruce D., Connelly G., Ellison S. 2022.** Different Fertility Approaches in Organic Hemp (*Cannabis sativa* L.) Production Alter Floral Biomass Yield but Not CBD:THC Ratio. *Sustainability*, 14 (10), 6222. DOI: 10.3390/su14106222
- Buhler D. D., Gunsolus J. L., Ralston D. F. 1992.** Integrated Weed Management Techniques to Reduce Herbicide Inputs in Soybean. *Agronomy Journal*, 84 (6), 973–978. DOI: 10.2134/agronj1992.00021962008400060013x
- Burczyk H., Frankowski J. 2018.** Henola – pierwsza polska odmiana konopi oleistych. *Zagadnienia Doradztwa Rolniczego*, (3(93)), 89–101.
- Burczyk H., Oleszak G. 2016.** Konopie oleiste (*Cannabis sativa* L. var. oleifera) uprawiane na nasiona do produkcji oleju i biogazu., (z. 4 (94)), s. 109-116.
- Burton R. A., Andres M., Cole M., Cowley J. M., Augustin M. A. 2022.** Industrial hemp seed: from the field to value-added food ingredients. *Journal of Cannabis Research*, 4 (1), 45. DOI: 10.1186/s42238-022-00156-7
- Chețan F., Rusu T., Chețan C., Urdă C., Rezi R., Șimon A., Bogdan I. 2022.** Influence of Soil Tillage Systems on the Yield and Weeds Infestation in the Soybean Crop. *Land*, 11 (10), 1708. DOI: 10.3390/land11101708
- Citterio S., Santagostino A., Fumagalli P., Prato N., Ranalli P., Sgorbati S. 2003.** Heavy Metal Tolerance and Accumulation of Cd, Cr and Ni by *Cannabis sativa* L. *Plant and Soil*, 256, 243–252. DOI: 10.1023/A:1026113905129
- Cordle C. T. 2004.** Soy Protein Allergy: Incidence and Relative Severity. *The Journal of Nutrition*, 134 (5), 1213S-1219S. DOI: 10.1093/jn/134.5.1213S
- Datta A., Ullah H., Tursun N., Pornprom T., Knezevic S. Z., Chauhan B. S. 2017.** Managing weeds using crop competition in soybean [*Glycine max* (L.) Merr.]. *Crop Protection*, 95, 60–68. DOI: 10.1016/j.cropro.2016.09.005
- Dąbrowski G., Skrajda-Brdak M. 2016.** Frakcja lipidowa i białkowa nasion konopi siewnych (*C. sativa* L.) oraz jej korzystny wpływ na zdrowie człowieka = Lipid and protein fraction of hemp seed (*C. sativa* L.) and its beneficial influence on human health. *Journal of Education, Health and Sport*, 6, 357–366. DOI: 10.5281/zenodo.62002
- Feng X., Sun G., Fang Z. 2022.** Effect of Hempseed Cake (*Cannabis sativa* L.) Incorporation on the Physicochemical and Antioxidant Properties of Reconstructed Potato Chips. *Foods*, 11 (2), 211. DOI: 10.3390/foods11020211
- Fike J. 2016.** Industrial Hemp: Renewed Opportunities for an Ancient Crop. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 35 (5–6), 406–424. DOI: 10.1080/07352689.2016.1257842

- Gawęda D., Nowak A., Haliniarz M., Woźniak A. 2020.** Yield and Economic Effectiveness of Soybean Grown Under Different Cropping Systems. *International Journal of Plant Production*, 14 (3), 475–485. DOI: 10.1007/s42106-020-00098-1
- Gerhards R., Hüsgen K., Gehring K. 2024.** Evaluation of mechanical and combined chemical with mechanical weeding in maize (*Zea mays* L.), soybean (*Glycine max* (L.) Merr. and winter wheat (*Triticum aestivum* L.). *Plant, Soil and Environment*, 70 (12), 751–759. DOI: 10.17221/386/2024-PSE
- Goldsmith P. D. 2008.** Economics of Soybean Production, Marketing, and Utilization. W: Soybeans. Elsevier,. DOI: 10.1016/B978-1-893997-64-6.50008-1
- Goswami S. 2020.** AGRICULTURE & FOOD: e-Newsletter Response of Rhizobium to Environmental Stress Rhizobium: A brief exposition., 2, 117–119.
- Hall J., Bhattarai S. P., Midmore D. J. 2013.** The Effects of Different Sowing Times on Maturity Rates, Biomass, and Plant Growth of Industrial Fiber Hemp. *Journal of Natural Fibers*, 10 (1), 40–50. DOI: 10.1080/15440478.2012.756639
- Hall J., Bhattarai S. P., Midmore D. J. 2014.** Effect of industrial hemp (*Cannabis sativa* L.) planting density on weed suppression, crop growth, physiological responses, and fibre yield in the subtropics. *Renewable Bioresources*, 2 (1), 1–7.
- Hartman G. L., West E. D., Herman T. K. 2011.** Crops that feed the World 2. Soybean – worldwide production, use, and constraints caused by pathogens and pests. *Food Security*, 3 (1), 5–17. DOI: 10.1007/s12571-010-0108-x
- He Z., Xiong J., Kent A. D., Deng Y., Xue K., Wang G., Wu L., Van Nostrand J. D., Zhou J. 2014.** Distinct responses of soil microbial communities to elevated CO<sub>2</sub> and O<sub>3</sub> in a soybean agro-ecosystem. *The ISME Journal*, 8 (3), 714–726. DOI:10.1038/ismej.2013.177
- Hou L., Wang Y., Wang Z., Gao R., Zhou X., Yang S., Luo X., Jiang Z., Liu Z. 2025.** Effects of Biochar on Soil Quality in a Maize Soybean Rotation on Mollisols. *Agronomy*, 15 (5), 1226. DOI: 10.3390/agronomy15051226
- Jankauskiene Z., Gruzdeviene E., Ivanovs S., Maumevicius E. 2017.** Screening hemp (*Cannabis sativa* L.) biomass and chemical composition as influenced by seed rate and genotype. W: . Zaprezentowano na 16<sup>th</sup> International Scientific Conference Engineering for Rural Development. DOI: 10.22616/ERDev2017.16.N062
- Kamle M., Mahato D., Sharma B., Gupta A., Shah A., Mahmud C., Agrawal S., Singh J., Shukla A., Kumar P. 2024.** Nutraceutical potential, phytochemistry of hemp seed (*Cannabis sativa* L.) and its application in food and feed: A review. *Food Chemistry Advances*, 4, 100671. DOI: 10.1016/j.focha.2024.100671
- Karabulut G., Kahraman O., Pandalaneni K., Kapoor R., Feng H. 2023.** A comprehensive review on hempseed protein: Production, functional and nutritional properties, novel modification methods, applications, and limitations. *International Journal of Biological Macromolecules*, 253, 127240. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2023.127240
- Karges K., Bellingrath-Kimura S. D., Watson C. A., Stoddard F. L., Halwani M., Reckling M. 2022.** Agro-economic prospects for expanding soybean production beyond its current northerly limit in Europe. *European Journal of Agronomy*, 133, 126415. DOI: 10.1016/j.eja.2021.126415
- Kim W., Kim S., Krishnan H. B. 2025.** Seed-Specific Silencing of Abundantly Expressed Soybean Bowman–Birk Protease Inhibitor Genes by RNAi Lowers Trypsin and Chymotrypsin Inhibitor Activities and Enhances Protein Digestibility. *International Journal of Molecular Sciences*, 26 (14), 6943. DOI: 10.3390/ijms26146943

- Kojić M., Samardžić N., Popov M., Gavarić A., Vidović S., Teslić N., Zeremski T., Koren A., Konstantinović B. 2025.** Impact of Industrial Hemp (*Cannabis sativa* L.) Extracts on Seed Germination and Seedling Growth: Evaluating Allelopathic Activity Across Various Extraction Methods. *Agronomy*, 15 (3), 684. DOI: 10.3390/agronomy15030684
- Kotecka-Majchrzak K., Kasalka-Czarna N., Spychaj A., Mikołajczak B., Montowska M. 2021.** The Effect of Hemp Cake (*Cannabis sativa* L.) on the Characteristics of Meatballs Stored in Refrigerated Conditions. *Molecules*, 26 (17), 5284. DOI: 10.3390/molecules26175284
- Kurosaki H., Yumoto S. 2003.** Effects of Low Temperature and Shading during Flowering on the Yield Components in Soybeans. *Plant Production Science*, 6 (1), 17–23. DOI: 10.1626/pp.s.6.17
- Leonard W., Zhang P., Ying D., Fang Z. 2019.** Hempseed in food industry: Nutritional value, health benefits, and industrial applications. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 19. DOI: 10.1111/1541-4337.12517
- Leonard W., Zhang P., Ying D., Xiong Y., Fang Z. 2021.** Effect of extrusion technology on hempseed (*Cannabis sativa* L.) oil cake: Polyphenol profile and biological activities. *Journal of Food Science*, 86 (7), 3159–3175. DOI: 10.1111/1750-3841.15813
- Luo Z., Zhu Y., Xiang H., Wang Z., Jiang Z., Zhao X., Sun X., Guo Z. 2025.** Advancements in Inactivation of Soybean Trypsin Inhibitors. *Foods*, 14 (6), 975. DOI: 10.3390/foods14060975
- Markowska J., Polak E., Drabent A., Żak A. 2021.** Konopie siewne *Cannabis sativa* L. – odmiany, właściwości, zastosowanie. *Żywność Nauka Technologia Jakość/Food Science Technology Quality*, 127 (2), 90–105. DOI: 10.15193/zntj/2021/127/380
- Matthews M. L., Marshall-Colón A., McGrath J. M., Lochocki E. B., Long S. P. 2022.** Soybean-BioCro: a semi-mechanistic model of soybean growth. In *Silico Plants*, 4 (1), diab032. DOI: 10.1093/insilicoplants/diab032
- Mattila P. H., Pihlava J.-M., Hellström J., Nurmi M., Euroola M., Mäkinen S., Jalava T., Pihlanto A. 2018.** Contents of phytochemicals and antinutritional factors in commercial protein-rich plant products. *Food Quality and Safety*. DOI: 10.1093/fqsafe/fyy021
- Mendoza-Pérez R. J., Náthia-Neves G., Blanco B., Vela A. J., Caballero P. A., Ronda F. 2024.** Physicochemical Characterisation of Seeds, Oil and Defatted Cake of Three Hempseed Varieties Cultivated in Spain. *Foods*, 13 (4), 531. DOI: 10.3390/foods13040531
- Ordóñez R. A., Archontoulis S. V., Martinez-Feria R., Hatfield J. L., Wright E. E., Castellano M. J. 2020.** Root to shoot and carbon to nitrogen ratios of maize and soybean crops in the US Midwest. *European Journal of Agronomy*, 120, 126130. DOI: 10.1016/j.eja.2020.126130
- Pantović J. G., Sečanski M. 2022.** Weed Control in Organic Farming. *Contemporary Agriculture*, 72 (1–2), 43–56. DOI: 10.2478/contagri-2023-0007
- Pittelkow C. M., Linqvist B. A., Lundy M. E., Liang X., Van Groenigen K. J., Lee J., Van Gestel N., Six J., Venterea R. T., Van Kessel C. 2015.** When does no-till yield more? A global meta-analysis. *Field Crops Research*, 183, 156–168. DOI: 10.1016/j.fcr.2015.07.020
- Pointke M., Ohlau M., Risius A., Pawelzik E. 2022.** Plant-Based Only: Investigating Consumers' Sensory Perception, Motivation, and Knowledge of Different Plant-Based Alternative Products on the Market. *Foods*, 11 (15), 2339. DOI: 10.3390/foods11152339

- Qiu L.-J., Xing L.-L., Guo Y., Wang J., Jackson S. A., Chang R.-Z. 2013.** A platform for soybean molecular breeding: the utilization of core collections for food security. *Plant Molecular Biology*, 83 (1–2), 41–50. DOI: 10.1007/s11103-013-0076-6
- Román S., Sánchez-Siles L. M., Siegrist M. 2017.** The importance of food naturalness for consumers: Results of a systematic review. *Trends in Food Science & Technology*, 67, 44–57. DOI: 10.1016/j.tifs.2017.06.010
- Rueda-Ayala V., Rasmussen J., Gerhards R. 2010.** Mechanical Weed Control. W: *Precision Crop Protection - the Challenge and Use of Heterogeneity*, E.-C. Oerke, R. Gerhards, G. Menz, R. A. Sikora (red.). Springer Netherlands, Dordrecht. DOI: 10.1007/978-90-481-9277-9\_17
- Ryabukha S. S., Chernyshenko P. V., Bezuglyi I. M., Kobyzeva L. N., Kolomatska V. P., Golokhorynska M. G. 2022.** Variability of soybean yield and seed quality depending on environmental hydrothermal factors. *Plant Breeding and Seed Production*, (121), 63–75. DOI: 10.30835/2413-7510.2022.260997
- Salmerón M., Purcell L. C. 2016.** Simplifying the prediction of phenology with the DSSAT-CROPGRO-soybean model based on relative maturity group and determinacy. *Agricultural Systems*, 148, 178–187. DOI: 10.1016/j.agsy.2016.07.016
- Serafin-Andrzejewska M., Helios W., Jama-Rodzeńska A., Kozak M., Kotecki A., Kuchar L. 2021.** Effect of Sowing Date on Soybean Development in South-Western Poland. *Agriculture*, 11 (5), 413. DOI: 10.3390/agriculture11050413
- Setiyono T. D., Weiss A., Specht J., Bastidas A. M., Cassman K. G., Dobermann A. 2007.** Understanding and modeling the effect of temperature and daylength on soybean phenology under high-yield conditions. *Field Crops Research*, 100 (2–3), 257–271. DOI: 10.1016/j.fcr.2006.07.011
- Shikanai A., Gage K. L. 2022.** Allelopathic Potential of Hemp: Implications for Integrated Weed Management. *Frontiers in Agronomy*, 4, 832471. DOI: 10.3389/fagro.2022.832471
- Singh M., Thapa R., Singh N., Mirsky S. B., Acharya B. S., Jhala A. J. 2023.** Does narrow row spacing suppress weeds and increase yields in corn and soybean? A meta-analysis. *Weed Science*, 71 (6), 520–535. DOI: 10.1017/wsc.2023.50
- Soja 2024 – Wstępne wyniki plonowania odmian. 2024.** Centralny Ośrodek Badania Odmian Roślin Uprawnych. Pobrano z [https://coboru.gov.pl/Publikacje\\_COBORU/Wstepne\\_wyniki\\_PDO/WWPO\\_2024\\_PO\\_soja.pdf](https://coboru.gov.pl/Publikacje_COBORU/Wstepne_wyniki_PDO/WWPO_2024_PO_soja.pdf)
- Struik P., Amaducci S., Bullard M. J., Stutterheim N., Venturi G., Cromack H. T. H. 2000.** Agronomy of fibre hemp (*Cannabis sativa* L.). *Industrial Crops and Products* 11 (2000) 2-3.
- Sun T., Cui L., Zong L., Zhang S., Jiao Y., Xue X., Jin Y. 2024.** Weed Recognition at Soybean Seedling Stage Based on YOLOV8nGP + NExG Algorithm. *Agronomy*, 14 (4), 657. DOI: 10.3390/agronomy14040657
- Sunoj Valiaparambil Sebastian J., Dong X., Trostle C., Pham H., Joshi M. V., Jessup R. W., Burow M. D., Provin T. L. 2023.** Hemp Agronomy: Current Advances, Questions, Challenges, and Opportunities. *Agronomy*, 13 (2), 475. DOI: 10.3390/agronomy13020475
- Tang K., Struik P. C., Yin X., Thouminot C., Bjelková M., Stramkale V., Amaducci S. 2016.** Comparing hemp (*Cannabis sativa* L.) cultivars for dual-purpose production under contrasting environments. *Industrial Crops and Products*, 87, 33–44. DOI: 10.1016/j.indcrop.2016.04.026

- Tataridas A., Kanatas P., Chatzigeorgiou A., Zannopoulos S., Travlos I. 2022.** Sustainable Crop and Weed Management in the Era of the EU Green Deal: A Survival Guide. *Agronomy*, 12 (3), 589. DOI: 10.3390/agronomy12030589
- Tehulie N., Misgan T., Awoke T. 2021.** Review on weeds and weed controlling methods in soybean (*Glycine max L.*). *International Journal of Current Research*, 1–06.
- Toleikiene M., Slepetyš J., Sarunaite L., Lazauskas S., Deveikyte I., Kadziulienė Z. 2021.** Soybean Development and Productivity in Response to Organic Management above the Northern Boundary of Soybean Distribution in Europe. *Agronomy*, 11 (2), 214. DOI: 10.3390/agronomy11020214
- Tubiello F. N., Soussana J.-F., Howden S. M. 2007.** Crop and pasture response to climate change. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 104 (50), 19686–19690. DOI: 10.1073/pnas.0701728104
- Umburanas R. C., Kawakami J., Ainsworth E. A., Favarin J. L., Anderle L. Z., Dourado-Neto D., Reichardt K. 2022.** Changes in soybean cultivars released over the past 50 years in southern Brazil. *Scientific Reports*, 12 (1), 508. DOI: 10.1038/s41598-021-04043-8
- Wenda-Piesik A., Ambroziak K. 2022.** The Choice of Soybean Cultivar Alters the Underyielding of Protein and Oil under Drought Conditions in Central Poland. *Applied Sciences*, 12 (15), 7830. DOI: 10.3390/app12157830
- Winkler J., Dvořák J., Hosa J., Martínez Barroso P., Vavřková M. D. 2022.** Impact of Conservation Tillage Technologies on the Biological Relevance of Weeds. *Land*, 12 (1), 121. DOI: 10.3390/land12010121
- Yazici L. 2023.** Optimizing plant density for fiber and seed production in industrial hemp (*Cannabis sativa L.*). *Journal of King Saud University – Science*, 35 (1), 102419. DOI: 10.1016/j.jksus.2022.102419
- Yazici L., Mirze O. 2025.** The Effect of Water Retaining Polymer Applications on Agricultural Characteristics of Hemp (*Cannabis sativa L.*). *Selcuk Journal of Agricultural and Food Sciences*. DOI: 10.15316/SJAIFS.2025.001
- Zhou J., Shin Y. H., Jung S. E., Kong L. 2024.** Drivers behind consumers' intent to purchase deodorized soy milk. *Food Innovation and Advances*, 3 (2), 88–98. DOI: 10.48130/fia-0024-0009

## 6. STRESZCZENIE

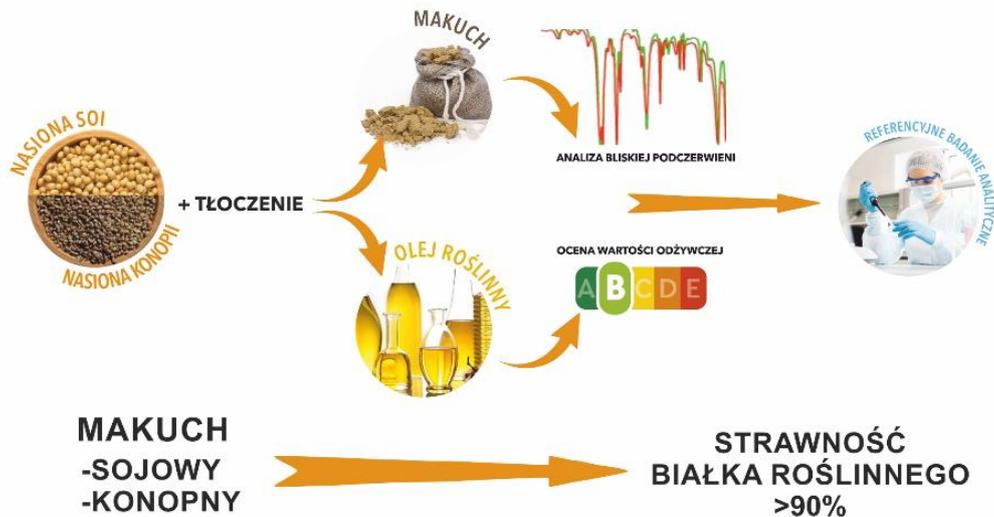
### **Wpływ wybranych praktyk agrotechnicznych na plonowanie i jakość nasion konopi siewnych i soi przeznaczonych do przetwórstwa spożywczego i przemysłowego**

**mgr inż. Krystian Ambroziak**

**Słowa kluczowe:** soja, konopie siewne, uprawa proekologiczna, białko roślinne, artykuły spożywcze

Wyzwaniem dla rolnictwa zrównoważonego jest lokalna produkcja wysokiej jakości białka. Celem badań gatunków soi zwyczajnej i konopi włóknistych było wykazanie ich przydatności jako roślin oleisto-białkowych, które po przetworzeniu stanowią nowe zdywersyfikowane źródła białka roślinnego dla żywienia człowieka. Prace badawcze skupione były na poprawie ogniw agrotechnicznych, w szczególności regulacji zachwaszczenia i zbioru, oraz na przetwórstwie uzyskanych plonów nasion. Udowodniono, że monokultura i ekologizacja sposobu ich uprawy nie wpływa negatywnie na wysokość i jakość osiąganego plonu. Badania polowe wykazały również skuteczność hybrydowych sposobów odchwaszczenia soi poprzez zastosowanie pielenia mechanicznego oraz samoregulacji zachwaszczenia konopi siewnej poprzez zwiększenie gęstości ładu. Przetwórstwo nasion konopi siewnej polegało na opcjonalnym obłuszczeniu i tłoczeniu nasion na konfigurowalnej prasie ślimakowej. Nasiona soi kruszono na młynach walcowych, kondycjonowano z użyciem pary wodnej oraz ekspandowano i opcjonalnie poddawano wtórnemu tłoczeniu. Pełnotłusta soja, ekspandowany makuch sojowy, olej surowy zimno tłoczony i makuch konopny poddane były analityce bliskiej podczerwieni, referencyjnym badaniom analitycznym, ocenie wartości odżywczych i próbom starzeniowym wykazując dużą przydatność jako komponent żywności funkcjonalnej. Analizowane rośliny oleiste po procesie przetwórstwa stają się cennym źródłem spożywczego białka roślinnego i mogą być z powodzeniem uprawiane w Polsce na cele konsumpcyjne.

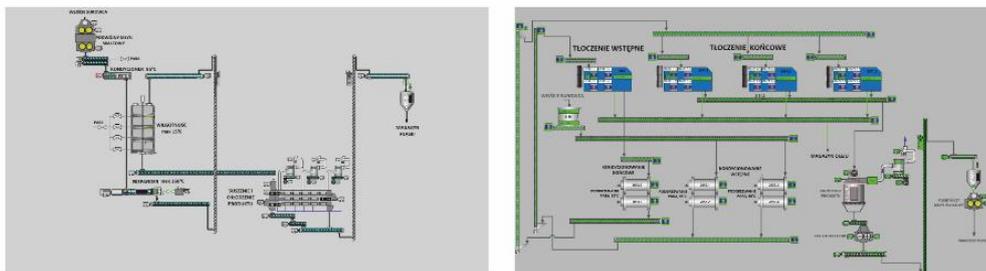
## 1. Proces tłoczenia na zimno



## 2. Osiągnięte cele agrotechniczne



## 3. Delikatna obróbka termiczna białka



## 6. ABSTRACT

### **The impact of selected agronomic practices on the yield and quality of hemp and soybean seeds intended for food and industrial processing**

**Krystian Ambroziak, Master of Science in Agricultural Engineering**

**Key words:** soy, hemp, ecological farming, plant protein, food products

A challenge for sustainable agriculture is the local production of high-quality protein. The aim of the study of soybean and hemp species was to demonstrate their suitability as oil-protein crops, which, once processed, constitute new, diversified sources of plant protein for human nutrition. The research focused on improving agronomic processes, particularly weed control and harvesting, as well as processing the resulting seed yields. It was proven that monoculture and ecological cultivation methods do not negatively impact yield and quality. Field trials also demonstrated the effectiveness of hybrid methods for soybean weed control through the use of mechanical weeding, and self-regulation of hemp weed infestation by increasing canopy density. Hemp seed processing involved optional dehulling and pressing of the seeds using a configurable screw press. Soybean seeds were crushed in roller mills, conditioned using steam, expanded, and optionally subjected to secondary pressing. Full-Fat Soybean, expanded soybean cake, cold-pressed crude oil, and hemp cake were subjected to near-infrared analysis, reference analytical studies, nutritional assessment, and aging tests, demonstrating their high suitability as functional food components. After processing, the analyzed oilseeds become a valuable source of dietary plant protein and can be successfully cultivated for human consumption in Poland.



## **7. ZAŁĄCZNIKI**

Article

# The Choice of Soybean Cultivar Alters the Underyielding of Protein and Oil under Drought Conditions in Central Poland

Anna Wenda-Piesik  and Krystian Ambroziak

Department of Agronomics, Faculty of Agriculture and Biotechnology, Bydgoszcz University of Science and Technology, Al. Kaliskiego 7, 85-796 Bydgoszcz, Poland

\* Correspondence: apiesik@pbs.edu.pl

**Abstract:** The popularization of soybean cultivation in Central Poland is progressing due to the European Soy Declaration signed by 13 member states in Brussels on 17 July 2017. Hence, this research was initiated under the European Innovation Partnership on phenotyping soybean cultivars in two regions, i.e., Kuyavian-Pomeranian and Greater Poland for integrated systems. The aim of this study was to determine soybean potential in the agrotechnical and agroclimatic conditions, with the selection of the most suitable cultivars for tillage and no-tillage cultivation in the region of Central Poland. Strict field research was carried out in six locations from 2018–2020 on 20 cultivars selected in terms of their earliness of maturation to the climatic conditions. On the basis of meteorological data, it was found that half of the plantations suffered from drought stress, as evidenced by the hydrothermal coefficients ( $K$ ) for the growing season of soybean  $K < 1.2$ . The significant multivariate relationship ( $R = 0.67$ ;  $p < 0.001$ ) between the hydrothermal coefficient  $K$  and the vegetation period days (VPD) as the predictors of the soybean yield was determined by the regression equation  $Y_{(\text{yield})} = 21.8 + 12.0 X_{(K)} + 0.20 X_{(\text{VPD})}$ . A significant multivariate relationship ( $R = 0.43$ ;  $p < 0.01$ ) was also found between the seed yield, hydrothermal coefficient  $K$  and the protein content, quantified with the regression equation  $Y_{(\text{protein})} = 32.6 + 0.25 X_{(\text{yield})} + 0.28 X_{(K)}$ . In the no-tillage system of cultivation, the seed yield of soybean constantly increased with increasing  $K$  (+32.3% between dry/relatively dry and optimal periods, +22.4% between optimal and humid periods), while in the tillage system, the yield increased by 22.1% only when  $K$  rose from optimal to humid. In the seasons with optimum and humid conditions, no-tilled soybean produced more oil, in comparison to the season of dry conditions, and the opposite trend was found with the greater oil content in the tillage system. Meanwhile, a higher protein content was observed in the tillage system under humid conditions. All soybean cultivars were grouped according to the cluster analysis ( $k$ -means) with ANOVA in terms of vegetation period in days, seed yield, oil, and protein content for tillage and no-tillage cultivation. The study confirmed that soybean might be considered in the future as a profitable crop in Central Poland and create perspective for a low-input source of protein and oil.



**Citation:** Wenda-Piesik, A.; Ambroziak, K. The Choice of Soybean Cultivar Alters the Underyielding of Protein and Oil under Drought Conditions in Central Poland. *Appl. Sci.* **2022**, *12*, 7830. <https://doi.org/10.3390/app12157830>

Academic Editors: S. E. El-Hendawy and Yaser Hassan Dewir

Received: 13 July 2022

Accepted: 1 August 2022

Published: 4 August 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/>).

**Keywords:** soybean; yield; protein; oil; phenotyping

## 1. Introduction

The soybean plant is native to Southeast and East Asia, where its cultivation dates back to 5000 years ago. In its home territory, soybeans are called “wonder plants” or “cows” [1] due to their wide application in nutrition and drug production [2]. Soybean (*Glycine max*) recognition as one of the most valuable crops in the world is largely due to the unique chemical composition of its seeds (18–22% oil and 33–45% protein) [3]. Common soybean (*Glycine max* (L.) Merrill), also known as veg soybean, belongs to the family *Fabaceae*, subfamily *Faboideae*, tribe *Phaseole*. Soybean is commonly used in human and animal nutrition and constitutes a raw material utilized in many industries, including biofuel and drug production [4,5]. Global soybean production has been increasing significantly over the last decades and is forecasted to continue increasing at least until 2030 [6,7]. The value

of soya in livestock and human nutrition and industry has not yet been fully exploited [8,9]. In 2020, approximately 360 million tons of soybean seeds were produced worldwide. The annual production of soybean meal is approximately 220 million tons, which constitutes almost 70% of the total plant meal production [10]. Increasing the soybean cultivation area in Europe, including for fodder purposes, is one of the assumptions of the European Soy Declaration signed by 13 member states in Brussels on 17 July 2017 during the meeting of the Council of Agriculture Ministers of the European Union [11].

In Europe, soybean is grown in 22 countries, including Poland and all the countries adjacent to Poland. The history of soybean in Europe began in the first half of the 18th century, where it was initially cultivated in the Paris Botanical Gardens. Soybean was cultivated on an industrial scale in the 19th century in Austria, Germany, France and Italy [12]. In 2021, the EU's soybean production was 2.93 million tons, and the main soybean producers are Italy, France, and Romania [11]. Raw soybean oil, a high-value unsaturated fatty acid [13], accounts for over 43 million metric tons of global production. Moreover, edible oil amounts to 26.7% of the total and the rest of it is used for animal feed [10,14].

Despite the long history of soybean cultivation in Poland, the crop area of its production has been presented annually as 14–25 thousand hectares in the last decade [15]. Due to the climatic and soil conditions, the southeastern region seems to be most suitable for soybean cultivation in Poland [16,17]. Moreover, the cultivation of soybean follows the trend of soil conservation made by no-tillage practices and by biochar application, which may have serious environmental and socioeconomic impacts [18]. It consists of leaving organic matter in the soil and reducing the intensity of soil cultivation, as well as lowering the carbon footprint [19–21].

Climate variability is one of the most important factors that influences each year the effects of agricultural production, even in high-input and high-technology advanced agricultural areas [22,23]. Some studies were dedicated to determining the limitations for soybean cultivation resulting from temporal variability of climate elements [24], aiming to adapt particular plant cultivars to projected changes in thermal conditions and water balances in the area of the United States [25]. The opinion that an increase in temperature and lengthening of the vegetation period was observed all across Poland has been confirmed for over 10 years [26–28]. However, scenarios on the fluctuations in the amount of precipitation in Central Europe are ambiguous [29–31].

A strong argument in favor of the popularization of soybean cultivation in Poland has to do primarily with an increasing number of cultivars being adapted for cultivation in our climate and, compared to other legumes, higher nutrient content and lower soil requirements [12]. The production of native soybean in Poland remains at a relatively low level, as a consequence of the high import rate of soybean meal for feed [17]. For cultivar breeding, high-yielding environments contribute to maximizing the expression of genetic yield potential, even if the yield potential is not reached under farmers' field conditions [32,33]. In addition, the selection of cultivars in unfavorable environments with lower yield potential, such as low fertility and high weed incidence, helps to identify more resilient cultivars [34], and it is largely unknown how breeding affects this performance in modern cultivars compared to older ones, especially the response to high temperatures and drought.

The approach for the study was planned due to the need of implemented research by soybean consortium for Central Poland. The aim of these studies was to determine whether soybean can be produced in the agrotechnical and agroclimatic conditions of Central Poland and what level of yield as well as oil and protein content can be considered. The second important goal was to select the cultivars most suitable for tillage and no-tillage cultivation, depending on the hydrothermal conditions. The third goal was to study the response of soybean to drought stress that accompanied half of the plantations in the studied space-time.

## 2. Material and Methods

### 2.1. Location of the Field Trials and Soil Conditions

Field trials were conducted at six locations in 2018–2020 in Central Poland and in two regions, i.e., Kuyavian-Pomeranian and Greater Poland. Research and development works were carried out under the project name ‘Moja Soja’ (My Soybean), which operated on the basis of the Consortium Agreement signed on 27 July 2017. The members form the operational group, belonging to the European Innovation Partnership (EIP), referred to in Art. 56 of the Regulation of the European Parliament and of the Council of Europe of 17 December 2013, for the purpose of joint implementation of the operation involving the development and implementation of innovative solutions in selected farms cultivating and feeding soybeans. An operation called “Soybeans in the Kuyavian-Pomeranian and Greater Poland provinces-innovative solutions in cultivation and feeding for farms”. The first part of the study concerns the production results of the soybean crop, protein and oil contents based on experimental work carried out at three experimental stations (Mochełek, Minikowo and Grocholin) and on the farms participating in the consortium (Rakowo, Witrogoszcz, Jędrzejewo) (Table 1).

**Table 1.** Coordinates and soil characteristics of the study sites.

Site	Latitude	Longitude	Particles (%)			Texture	N <sup>1</sup>	P	K	OM	pH
			Sand	Silit	Clay						
Mochełek	53°20′ N	17°86′ E	84.7	14.3	1.1	Loamy sand	0.17	238	216	1.8	6.6
Minikowo	52°21′ N	16°56′ E	80.5	17.6	1.9	Loamy sand	0.45	185	235	1.6	6.9
Grocholin	52°99′ N	17°42′ E	56.0	23.0	21.0	Sandy (clay) loam	0.70	182	197	1.2	6.2
Rakowo	53°52′ N	19°20′ E	64.1	33.5	2.4	Sandy loam	0.12	158	196	1.4	6.8
Witrogoszcz	53°15′ N	17°15′ E	82.7	15.5	2.8	Loamy Sand	0.54	178	216	1.4	6.7
Jędrzejewo	52°51′ N	16°36′ E	58.5	35.6	5.9	Sandy loam	0.32	167	234	2.2	6.8

<sup>1</sup> N—nitrogen (%), P—phosphorus (mg kg<sup>-1</sup>), K—potassium (mg kg<sup>-1</sup>), OM—organic matter (%).

Field trials were conducted on 36 square-meter experimental plots, repeated three times at each site in blocks. Cultivar plots contained 12 rows, each 12 m long with 0.25 m row spacing. The harvested area was limited to the 10 rows, excluding 0.5 m from the edges.

The soil conditions with particle-size distribution exhibited sandy loam at three locations (Grocholin, Rakowo and Jędrzejewo) and loamy sand at another three locations (Mochełek, Minikowo and Witrogoszcz). The soil showed a neutral pH (in 1 M KCl 6.2–6.9) (PN-ISO 10390:1997P). The soil was characterized by medium to very high availability of phosphorus (158–238 mg P kg<sup>-1</sup> soil) (PN-R-04023:1996P) and high potassium availability (196–235 mg K kg<sup>-1</sup> soil) (PNR-04022:1996/Az1:2002P). The humus content was at a level of 1.2–2.2% (KQ/PB-34), whereas the nitrogen content ranged from 0.12 to 0.70% (Table 1). These data represent the averaged status of macronutrient content in the spring.

### 2.2. Cropping Practice

The twenty non-GMO soybean (*Glycinia max* (L.) Merrill) cultivars, originating from the EU common catalogue of agricultural cultivars (CCA) or from the Polish catalogue (<https://coboru.gov.pl>, accessed on 29 July 2022), were chosen for the investigation. The relative maturity of cultivars is classified according to both EU and Polish catalogues as very early type (0000), named here as the 1st group–3 cultivars, mid-early type (000+), named as the 2nd group–3 cultivars, late early type (000), named as the 3rd group–5 cultivars, late type (00), named as the 4th group–9 cultivars (Table 2). Cultivar selection was justified by the region’s climatic conditions and by the breeder recommendation, so soybeans should be harvested no later than October 10th. The duration of the period from sowing to harvest when soybean reaches the full maturity stage (BBCH 89) is written here as VPD (vegetation period in days). Each cultivar has the same VPD range as it obtained in the years of study. The propagation material was treated with nodulating bacteria (*Bradyrhizobium*

*japonicum*) NPPL HiStick® BASF. Soybean was grown in an integrated system without monocultural practices and with chemical products used for macrophage control. The most frequent fore-crops were small cereal species (wheat, barley, and triticale) and corn (Table 3). Two different soil practices were used in the study. Soil cultivation based on plow tillage at three sites (Mochetek, Minikowo and Grocholin), e.g., skimming and harrowing, (in order: autumn: plowing; spring: harrowing, NPK application, cultivation with harrowing, seeding, harrowing). A no-tillage system was used in three other locations (Jędrzejewo, Rakowo and Witrogoszcz) using a stubble cultivator: grubber and cage roller instead of skimming and cultivating instead of autumn plowing); in the spring, the same agronomic operations were carried out as under the plow tillage system. Mineral fertilization was applied before seeding at the following rates: N 30 kg ha<sup>-1</sup>, P 40–75 kg ha<sup>-1</sup>, K 60–80 kg ha<sup>-1</sup>. Fertilizer rates were determined based on the nutritional requirements of the crop plant and soil nutrient availability. The dates of sowing were between 30 April in Grocholin in 2019 and 9 May in Rakowo in 2018. The decision of the term sowing depended on the soil temperature, which must reach a minimum of 8 °C.

**Table 2.** Cultivar characteristics in alphabetic order used in the study.

Cultivar	Origin	Years of Study	Earliness Group	Sites of Study #	Vegetation (VPD)
Abaca	AT	2019, 2020	1st (0000)	G, Mo, J, R, W	130–135
Abelina	AT	2018, 2019, 2020	2nd (000+)	G, J, Mo, Mn, R, W	135–144
Aligator	FR	2018, 2019, 2020	4th (00)	J, R, W	144–152
Amarok	DE	2018, 2019, 2020	3rd (000)	G, Mo	140–146
Annushka	UA	2018, 2019	1st (0000)	W, Mo, G	100–130
Anser	RU	2018, 2019, 2020	3rd (000)	G, Mn, R, W, J	130–141
Augusta	PL	2018, 2019, 2020	1st (0000)	Mo, Mn, G	120–127
Aurelina	AT	2019, 2020	4th (00)	Mo, Mn, R, W	142–151
Bohemians	CZ	2018, 2019, 2020	3rd (000)	G, Mo, J, R, W	135–142
Comandor	FR	2018, 2019, 2020	4th (00)	G, Mo, J	140–151
Erica	PL	2018, 2019, 2020	2nd (000+)	G, Mo, Mn	127–138
Favorit	RU	2018, 2019, 2020	4th (00)	G, Mo, Mn	147–155
Galice	CH	2018, 2019	4th (00)	G, Mo	145–154
Mavka	PL	2018, 2020	4th (00)	W, Mn	142–145
Mayrika	CZ	2018, 2019	2nd (000+)	G, Mo, J, W, R	130–143
Merlin	AT	2018, 2019	3rd (000)	J, Mo	128–135
Obelix	AT	2018, 2019	4th (00)	G, J, Mo, W, R	138–146
Silesia	CZ	2018, 2019	4th (00)	G, J, Mo, W	140–150
Sirelia	AT	2018, 2019, 2020	4th (00)	G, Mo, Mn	136–149
Violetta	PL	2018, 2019	3rd (000)	R, W	134–140

# Mo-Mochetek; Mn-Minikowo; G-Grocholin; R-Rakowo; W-Witrogoszcz; J-Jędrzejewo.

Weed control was necessary every year and site, with the first treatment performed after sowing soybeans using metribuzine (Sencor Liquid 600 SC, 0.55 L ha<sup>-1</sup> at BBCH 00-03) or pendimetaline (Stomp Aqua 455 CS, 1.5 L ha<sup>-1</sup> at BBCH 00-05). The emergence of soybean cultivars varied in the years and locations from DAS 13 in Witrogoszcz in 2020 to DAS 30 in Jędrzejewo in 2019. The plant density was 40–60 per m<sup>2</sup>, depending on the year and sites (data not presented here). Each trial was monitored weekly to control plants from the diseases and pests. The second applications of herbicides, as well as the fungicidal and insecticidal treatments, are presented in Table 3. Methyl thiophanate (a compound from the benzimidazole group) has been used in several places in some seasons against septoriosis—Brown spot soybean leaf spot, application term from a developed trifoliolate leaf on the second node until the pods are fully ripe (BBCH 12-79). Acetamipride (a compound from the group of neonicotinoids) was used to control the bean legume pest at the stage of pod and seed development (BBCH 70).

**Table 3.** Agrotechnical characteristics in the sites and years of the study.

Site	Year	Pre-Crop	Soil Cultivation	Sowing Date	Emergency DAS <sup>#</sup>	Herbicides <sup>1</sup>	Fungicide <sup>2</sup>	Insecticide <sup>3</sup>
Mochełek	2018	Triticale	Tillage	05/04	20	I-Met., II-Bent. + Imaz.	-	-
	2019	Wheat	Tillage	05/05	23	I-Met. + Fluf.	Thioph.-methyl	Acet.
	2020	Triticale	Tillage	05/02	24	I-Pend., Bent. + Imaz.	-	Acet.
Minikowo	2018	Seed corn	Tillage	05/07	19	I-Met., II-Bent. + Imaz.	-	-
	2019	Seed corn	Tillage	05/02	24	I-Met., II-Bent. + Imaz.	Thioph.-methyl	Acet.
	2020	Triticale	Tillage	05/08	24	I-Pend., II- Bent. + Imaz.	Thioph.-methyl	Acet.
Grocholin	2018	Seed corn	Tillage	05/02	18	I-Met., II-Bent. + Imaz.	Thioph.-methyl	Acet.
	2019	Wheat	Tillage	04/30	22	I-Met., II-Bent. + Imaz.	Thioph.-methyl	Acet.
	2020	Wheat	Tillage	04/31	16	I-Pend., II- Bent. + Imaz.	Thioph.-methyl	Acet.
Rakowo	2018	Seed corn	No-tillage	05/09	16	I-Met., II-Bent. + Imaz.	-	-
	2019	Seed corn	No-tillage	05/07	24	I-Met. + Fluf., II-Clet. +Bent. + Imaz.	Thioph.-methyl	Acet.
	2020	Seed corn	No-tillage	05/08	14	I-Pend., II- Bent. + Imaz.	Thioph.-methyl	Acet.
Witrogoszcz	2018	Barley	No-tillage	05/08	25	I-Met., II-Clet. + Bent. + Imaz.	-	-
	2019	Silage corn	No-tillage	05/07	15	I-Met. + Fluf., II-Clet. +Bent. + Imaz.	Thioph.-methyl	Acet.
	2020	Triticale	No-tillage	05/05	13	I-Pend., II- Bent. + Imaz.	-	-
Jędrzejewo	2018	Rape	No-tillage	05/04	16	I-Met., II-Bent. + Imaz.	-	-
	2019	Barley	No-tillage	04/30	30	I-Met. + Fluf., II- II-Clet. +Bent. + Imaz.	-	Acet.
	2020	Wheat	No-tillage	05/02	14	I-Pend., II- Bent. + Imaz.	-	-

<sup>#</sup> DAS—days after sowing; <sup>1</sup> Abbreviations of active substances of herbicides, commercial names, doses and stage: I-Met. Metribuzine (Sencor Liquid 600 SC, 0.55 L ha<sup>-1</sup> BBCH 00-03), II-Bent. + Imaz. Bentazone and imazamox (Corum 502.4 SL, 1.25 L ha<sup>-1</sup>, BBCH 12-25), I-Met. + Fluf. Metribuzine and flufenacet (Plateen 41.5 G, 2 kg ha<sup>-1</sup>), I-Pend. Pendimetaline (Stomp Aqua 455 CS, 1.5 L ha<sup>-1</sup> BBCH 00-05), II-Clet. Clethodim (Select Super 120 EC, 0.8–2.0 L ha<sup>-1</sup> BBCH 13-59). <sup>2</sup> Abbreviations of active substances of fungicide, commercial name, doses and stage: Thioph.-methyl. Thiophanate-methyl (Topsin M 500SC, 1.5 L ha<sup>-1</sup>, BBCH 12-79). <sup>3</sup> Abbreviations of active substances of insecticide, commercial name, doses and stage: Acet. Acetamipride (Mospilan 20SP, 0.2 L ha<sup>-1</sup>, BBCH 61-70).

### 2.3. Measurements

Soybean was harvested with a plot-harvester Wintersteiger<sup>®</sup> AG, depending on the cultivar earliness (Table 1). Seed moisture was determined by drying a defined quantity of seed for 2 h at 120 °C, calculating the moisture content and using it to adjust the seed yield (dt ha<sup>-1</sup>) to 14% moisture content. Crude protein content (%) according to PN-EN ISO 5983-1:2006 was analyzed by Kjeltec 2200 Auto Distillation<sup>®</sup> Tecator, and the oil content (%) according to PN ISO 6492: 2005 by Soxtec system HT 1043 Extraction Unit<sup>®</sup> Tecator [35].

### 2.4. Weather Conditions

Weather data, i.e., precipitation and air temperature, were collected during the study from the nearest weather stations (Table 4). The three vegetation seasons of soybean, namely May–September, were valorized using the hydrothermal coefficient ( $K$ ) according to the equation:

$$K = 10P/t, \quad (1)$$

where  $P$  is the precipitation total and  $t$  is the sum of the daily mean air temperature values. The classification for Poland's temperate climate is  $K < 1.0$  dry season; 1.1–1.2 relatively dry seasons; 1.3–1.6 optimal humid; and  $K > 1.7$  humid season [36]. The calculated  $K$  values are presented in Table 5.

**Table 4.** Monthly sum of precipitation and monthly mean temperatures during seasons at the sites of the study.

Month	Precipitation (mm)						Temperature (°C)						
	Mochelek	Minikowo	Grocholin	Rakowo	Witrogoszcz	Jędrzejewo	Mochelek	Minikowo	Grocholin	Rakowo	Witrogoszcz	Jędrzejewo	
2018													
April	40.0	36.4	71.0	46.0	15.0	46.0	12.0	12.0	11.1	9.9	11.8	11.2	
May	14.2	9.8	5.5	30.0	7.0	8.0	16.9	17.0	17.0	16.8	16.5	16.8	
June	26.7	19.2	21.0	40.0	16.0	38.0	18.4	18.3	17.8	18.5	17.6	19.2	
July	86.0	34.6	44.0	15.0	70.0	86.0	20.5	20.2	20.7	20.7	20.2	20.1	
August	23.7	20.8	31.5	28.0	15.0	42.0	19.9	20.2	20.6	18.6	19.3	19.5	
September	17.0	11.4	32.5	34.5	26.5	76.5	15.6	15.5	16.7	16.0	16.3	15.8	
Sum	207.6	132.2	205.5	193.5	149.5	296.5	Mean	17.2	17.2	17.3	16.8	17.0	17.1
2019													
April	1.5	4.2	9.0	30.0	45.0	5.0	9.3	9.3	9.1	8.5	8.7	8.9	
May	89.2	58.2	86.5	95.0	55.0	39.0	12.1	12.0	13.5	14.1	15.0	14.6	
June	17.7	19.2	33.5	65.0	75.0	21.0	21.9	21.6	22.0	21.5	22.0	22.3	
July	22.4	16.8	45.0	50.0	15.0	52.5	18.6	18.5	19.0	19.3	19.2	18.9	
August	37.7	36.2	35.5	61.0	1.5	45.0	19.7	19.7	20.2	20.3	19.9	20.5	
September	98.5	72.6	76.5	45.0	19.5	87.0	13.5	13.2	14.2	14.2	13.9	14.6	
Sum	267.0	207.2	286.0	346.0	211.0	249.5	Mean	15.9	15.7	16.3	16.3	16.5	16.6
2020													
April	0.7	3	13.4	56.5	50.6	26.7	8.2	8.2	7.9	7.5	8.0	8.1	
May	34.6	23.8	35.6	76.8	67.4	98.6	10.9	10.8	10.8	10.9	11.0	10.8	
June	153.9	114	123.0	95.4	87.6	123	17.9	17.7	17.6	17.5	18.0	17.9	
July	85.1	78.6	65.0	75.6	55.4	65.7	18.0	18.0	17.9	18.1	17.7	18.1	
August	90.0	60.4	76.8	65.4	78.8	59.5	19.2	19.3	19.5	19.3	19.0	19.1	
September	71.2	70.4	67.5	56.9	67.7	89	14.4	14.6	15.3	14.2	14.3	14.4	
Sum	435.5	347.2	367.9	370.1	356.9	435.8	Mean	16.1	16.1	16.2	16.0	16.1	

**Table 5.** Hydrothermal coefficient (K) calculated for the seasons 2018–2020 for the study sites.

Study Site	2018	Classification	2019	Classification	2020	Classification
Mochelek	0.8	Dry	1.5	Optimal humid	2.2	Humid
Minikowo	0.4	Dry	1.2	Rel. dry	1.7	Optimal humid
Grocholin	0.6	Dry	1.5	Optimal humid	1.9	Humid
Rakowo	0.7	Dry	1.5	Optimal humid	2.0	Humid
Witrogoszcz	0.6	Dry	0.8	Dry	1.9	Humid
Jędrzejewo	1.1	Rel. dry	1.2	Rel. dry	2.4	Humid

2.5. Statistical Methods

Analysis of variance (ANOVA) was determined (Table 6) using a mixed model with cultivar and site effect as fixed and year as a random block replication model. The characteristics (yield, protein, oil, VPD and K) were checked for normality by Shapiro–Wilk’s test. The HSD Tukey’s test was used for the means significance differences ( $p = 0.05$ ) and for the visualization of the means separation on figures. The multivariate regression by the forward method was calculated, taking yield, protein and oil as dependent attributes from year K and VPD as independent variables. The goodness of fit of the regression parameters was evaluated by Student’s  $t$ -test ( $p = 0.05$ ). The division of soybean cultivars into groups that differed significantly in terms of yield, protein, oil and VPD (also in tillage and no-tillage cultivation) was made using cluster analysis (CA) with the  $k$ -means method. Confirmation of significance between groups was performed via ANOVA with the grouping variable.

The calculations were performed in the STATISTICA 13.0 program (TIBCO Software Inc., Palo Alto, CA, USA).

**Table 6.** Mean squares from the three-way analysis of variance for the seed yield, protein content and oil content of soybean.

Source of Variation	df	Yield	Protein	Oil
Year	2	4446 ***	130.1 ***	0.98
Site	5	430.9 ***	19.4 *	1.33
Cultivar	19	151.4 ***	25.6 *	1.72 *
Year × site	10	33.1 ***	12.8	0.75
Year × cultivar	25	33.3 ***	29.7 *	1.19
Site × cultivar	32	46.3 ***	1.26	0.84
Residual	314	4.07	12.6	0.68

df—degrees of freedom; \*— $p < 0.05$ ; \*\*\*— $p < 0.001$ .

### 3. Results

#### 3.1. Soybean Yield

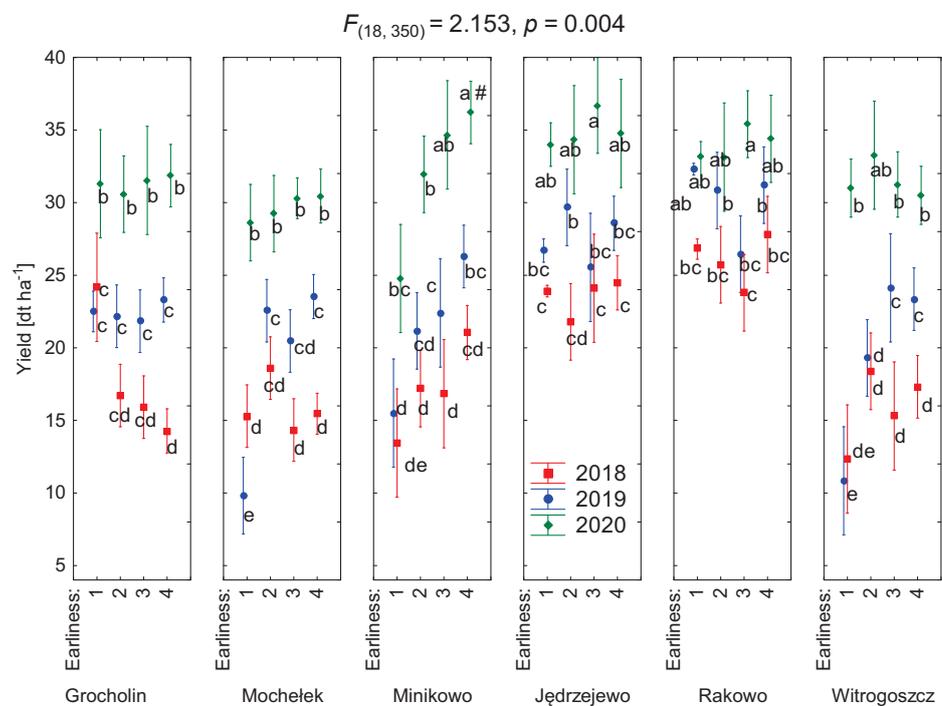
From 2018 through 2020, the seed yield for soybean cultivars planted in two regions of Central Poland averaged  $9.81 \text{ dt ha}^{-1}$  (*cv.* Augusta, at Mochełek in 2018) to  $39.29 \text{ dt ha}^{-1}$  (*cv.* Aligator, at Jędrzejewo in 2020) (data not present). The main factors, e.g., cultivar, site and year, had individually strongly differentiating ( $p < 0.001$ ) effects on yield, and they interacted (Tables 6 and 7, Figure 1). In 2020, across the locations and cultivars, the highest mean of soybean yield, i.e.,  $32.2 \text{ dt ha}^{-1}$ , which was higher in comparison to the average yield in 2019 (27%) and the average yield in 2018 (40%), was noted (Table 7). In six locations in the growing season in 2018 and in three locations in 2019, soybean plantations received insufficient sums of precipitation, ranging from 132–207 mm. The hydrothermal coefficient  $K$  ranged from 0.4 to 1.2, indicating that half of the plantations experienced drought conditions during the three years of the study (Table 5). The 2020 season had an optimal distribution of rainfall and temperature for soybeans, as both parameters are indicated by the hydrothermal  $K$  coefficient ranging from 1.7 to 2.4, namely, optimal and humid conditions (Table 5). The highest average yield in 2020 was noted on the sandy loam soil (e.g., in Jędrzejewo and Rakowo) obtained from the soybean cultivars at the 3rd group of earliness (Figure 1). The interaction of soybean yield depending on the sites and years with various precipitation was thoroughly studied by multi-regression analysis (2). We found a significant multivariate relationship ( $R = 0.67$ ;  $p < 0.001$ ) between the hydrothermal coefficient  $K$  and the vegetation period day VPD as predictors of soybean yield. The standardized multi regression coefficient  $b = 0.56$  ( $p < 0.001$ ) was found for the relation between  $K$  and yield, while for the VPD and yield, the standardized multi regression  $b = 0.25$  ( $p < 0.001$ ), which can be quantified with the regression equation:

$$Y_{(\text{yield})} = 21.8 + 12.0 X_{1(K)} + 0.20 X_{2(\text{VPD})} \quad (2)$$

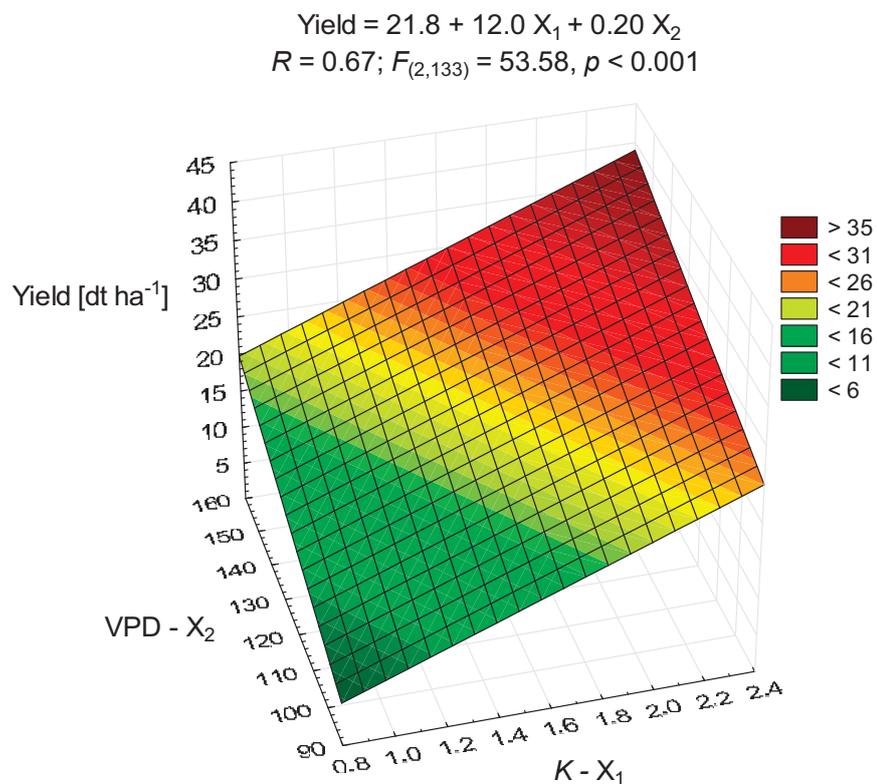
As producers of soybean have no influence on the  $K$  coefficient, they can decide what type of soybean group and the cultivars they choose, which reflects VPD. Each day of VPD from the range 100–155 increases the production of soybeans by 20 kg of seeds per ha. Meanwhile, each unit of hydrothermal coefficient increases the yield of soybean by 1200 kg of seeds per ha (Figure 2).

**Table 7.** Seed yield, protein content and oil content in seed depending on the soybean earliness, cultivars, and years of study. Mean ± standard error from the sites of study in Central Poland.

Cultivar	Yield (dt ha <sup>-1</sup> )			Protein (%)			Oil (%)		
	2018	2019	2020	2018	2019	2020	2018	2019	2020
Earliness group 1st (0000)									
Abaca	-	22.4 ± 1.75	32.6 ± 1.30	-	39.6 ± 3.95	42.8 ± 1.45	-	21.3 ± 0.10	21.8 ± 1.30
Annushka	9.25 ± 1.58	12.8 ± 0.45	-	37.6 ± 0.24	44.1 ± 1.45	-	20.7 ± 0.85	22.4 ± 0.45	-
Augusta	13.7 ± 1.77	12.7 ± 0.73	24.1 ± 0.72	38.4 ± 0.25	40.4 ± 2.80	45.8 ± 0.60	21.7 ± 1.77	23.5 ± 1.05	21.5 ± 0.45
Earliness group 2nd (000+)									
Abelina	24.8 ± 2.96	22.6 ± 1.74	33.1 ± 0.44	43.0 ± 1.64	40.6 ± 1.93	44.3 ± 0.59	23.1 ± 0.22	22.9 ± 0.32	22.1 ± 0.20
Erica	19.8 ± 2.06	13.5 ± 2.72	28.5 ± 1.52	44.9 ± 2.23	39.5 ± 0.83	46.0 ± 0.40	21.3 ± 0.12	22.0 ± 1.17	22.8 ± 0.23
Mayrika	25.6 ± 0.93	19.2 ± 1.16	-	41.0 ± 1.18	43.5 ± 0.94	-	21.9 ± 0.93	21.7 ± 0.26	-
Earliness group 3rd (000)									
Amarok	22.8 ± 3.80	16.8 ± 1.40	32.2 ± 1.05	38.4 ± 0.50	44.1 ± 1.20	45.1 ± 1.20	21.9 ± 0.05	20.5 ± 0.50	21.8 ± 0.50
Anser	20.7 ± 1.70	16.3 ± 0.52	33.1 ± 1.56	38.5 ± 0.50	40.3 ± 2.45	45.9 ± 0.65	22.1 ± 0.10	21.7 ± 0.45	22.2 ± 0.90
Bohemians	24.5 ± 3.36	20.1 ± 3.32	34.0 ± 0.95	47.1 ± 2.55	40.3 ± 2.67	46.2 ± 0.95	22.7 ± 0.70	22.9 ± 0.96	22.4 ± 0.65
Merlin	22.6 ± 2.87	18.9 ± 5.20	-	41.5 ± 0.55	39.4 ± 2.80	-	22.6 ± 0.50	23.1 ± 0.85	-
Violetta	22.9 ± 1.15	15.1 ± 0.25	-	43.2 ± 1.45	36.8 ± 1.15	-	21.9 ± 0.56	22.2 ± 0.95	-
Earliness group 4rd (00)									
Aligator	31.3 ± 0.87	28.7 ± 3.25	35.5 ± 0.95	42.3 ± 0.80	42.9 ± 2.60	43.5 ± 1.30	23.5 ± 0.10	22.3 ± 1.05	22.2 ± 1.00
Aurelina	-	15.5 ± 0.50	30.9 ± 2.85	-	37.9 ± 0.10	44.9 ± 0.70	-	22.9 ± 0.95	22.3 ± 0.80
Comandor	22.4 ± 1.10	19.0 ± 3.52	33.4 ± 0.79	38.9 ± 0.57	41.3 ± 1.69	44.7 ± 1.47	21.7 ± 0.20	22.6 ± 0.67	22.6 ± 0.27
Favorit	21.5 ± 0.96	16.4 ± 4.42	34.7 ± 3.63	42.8 ± 3.26	37.6 ± 0.10	43.9 ± 0.33	22.2 ± 0.60	21.2 ± 0.61	21.9 ± 0.59
Galice	23.3 ± 1.78	16.1 ± 0.18	-	36.0 ± 0.55	41.6 ± 1.65	-	23.1 ± 0.30	22.9 ± 0.45	-
Mavka	22.2 ± 1.80	-	31.2 ± 1.15	44.3 ± 1.10	-	44.9 ± 0.95	19.9 ± 1.25	-	19.5 ± 0.65
Obelix	22.2 ± 2.00	19.6 ± 1.56	-	40.8 ± 1.97	40.4 ± 1.66	-	22.4 ± 0.20	21.6 ± 0.41	-
Silesia	24.4 ± 0.91	16.2 ± 2.80	-	46.3 ± 2.08	40.8 ± 1.90	-	22.5 ± 0.55	22.6 ± 0.29	-
Sirelia	26.3 ± 2.93	17.1 ± 2.34	31.5 ± 0.92	43.6 ± 3.44	44.0 ± 0.80	45.4 ± 1.13	23.4 ± 0.25	21.3 ± 0.23	22.7 ± 0.32



**Figure 1.** The seed yield (dt ha<sup>-1</sup>) depending on the earliness of soybean. Means ± confidence intervals ( $p = 0.95$ ) from cultivars planted in 2018–2020 in Central Poland. # Various letters indicate the heterogenous groups according to the HSD Tukey’s test at  $p = 0.05$ .



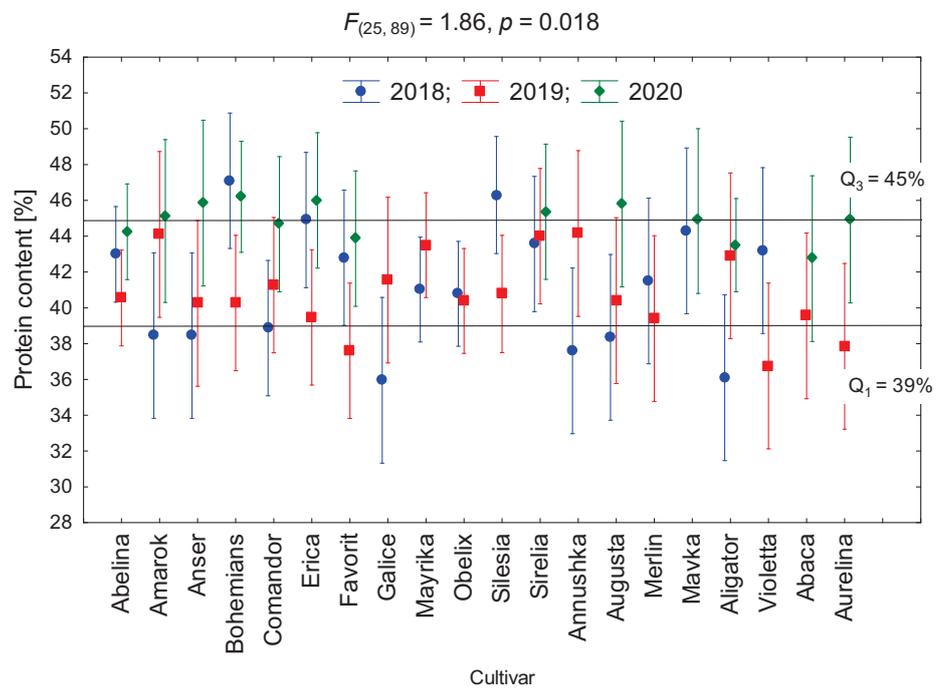
**Figure 2.** The relationship between soybean yield ( $\text{dt ha}^{-1}$ ) and vegetation period in days (VPD) and hydrothermal coefficient ( $K$ ) in Central Poland.

### 3.2. Protein and Oil Contents

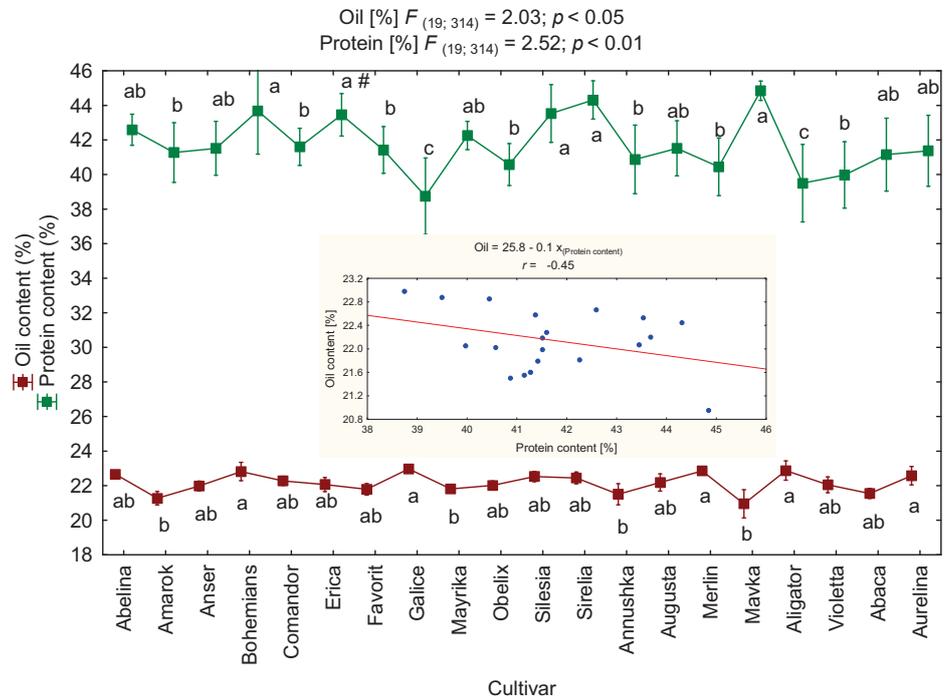
Protein content had a significant influence on the cultivar, site and year of study, and cultivar and year interacted with the protein content (Table 6). The highest average protein content was in 2020—44.7%, while in 2018 and 2019, the averages were significantly lower and reached 41.7% and 41.1%, respectively (Table 7). An interaction of genetically attributed protein content in cultivars and the years of study was found (Figure 3). In the first quartile of the highest protein contents, eight cultivars were planted in 2020 (Amarok, Anser, Bohemians, Erica, Sirelia, Augusta, Aurelina, and Mavka), while in 2018 three cultivars were planted, i.e., Bohemians, Erica, and Silesia (Figure 3). Meanwhile, the oil content depends just on the cultivar effect; it was stable over the years, as well as in the sites of study, and showed no interaction between effects (Tables 6 and 7, Figure 4). The highest content was obtained from the cultivars Bohemians, Galice, Merlin, Aligator and Aurelina. A moderate negative correlation ( $r = -0.45, p = 0.05$ ) was detected for the relationship between oil and protein in soybean seeds, indicating a 0.1% decrease in oil for each percent increase in the protein content in seeds (Figure 4).

We found a significant multivariate relationship ( $R = 0.43; p < 0.01$ ) between the protein content and seed yield, and hydrothermal coefficient  $K$ . The standardized multi regression coefficient  $b = 0.14$  ( $p < 0.01$ ) was found for the relationship between yield and proteins, while for the  $K$  and protein content, the standardized multi regression  $b = 0.09$  ( $p < 0.002$ ), which can be quantified with the regression equation (Figure 5):

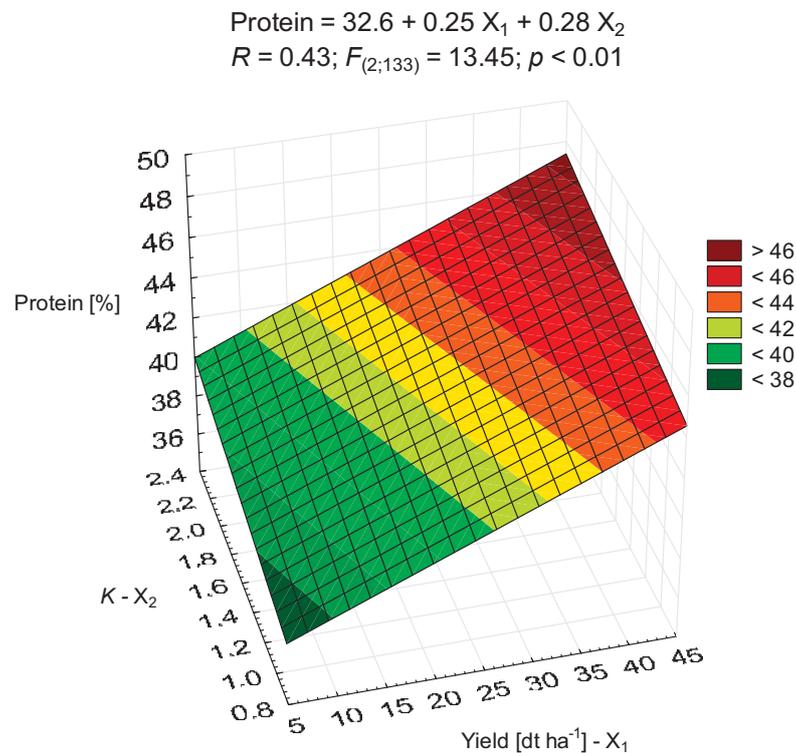
$$Y_{(\text{protein})} = 32.6 + 0.25 X_{1(Y)} + 0.28 X_{2(K)} \tag{3}$$



**Figure 3.** The protein content in soybean cultivars (%). Means ± confidence intervals ( $p = 0.95$ ) from sites in Central Poland.



**Figure 4.** The contents of protein (%) and oil (%) in soybean cultivars and the correlation between protein and oil. Means ± confidence intervals ( $p = 0.95$ ) from sites in Central Poland, 2018–2020. # Various letters indicate the heterogeneous groups according to the HSD Tukey’s test at  $p = 0.05$ .

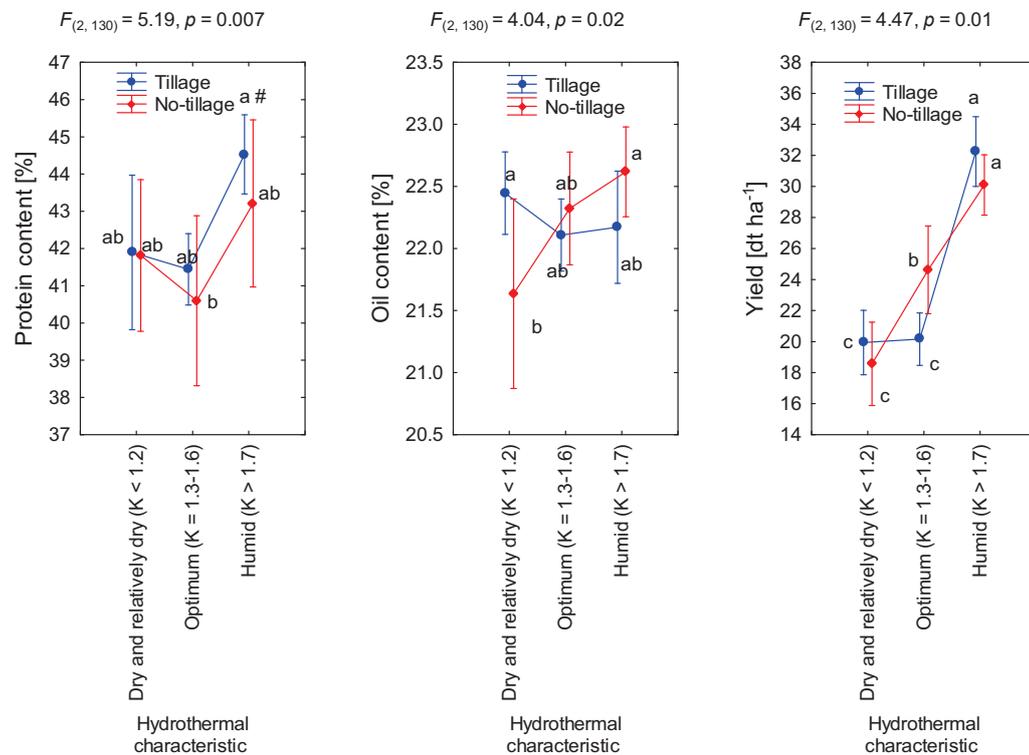


**Figure 5.** The relationship between soybean protein content (%), seed yield ( $\text{dt ha}^{-1}$ ) and hydrothermal coefficient ( $K$ ).

The protein content in the seed increases per 0.25%, following the increasing seed yield by 100 kg per ha, and per 0.28% in consequence of  $K$  increasing.

### 3.3. Tillage Versus No-Tillage Cultivation

The two-way ANOVA showed that the interaction between the cultivation system and the hydrothermal coefficient for oil content ( $F = 4.04$ ), protein content ( $F = 5.19$ ) and soybean yield ( $F = 4.47$ ) was significant (Figure 6). In tillage cultivation, the yield of soybean under dry and optimal hydrothermal conditions was uniform and significantly lower by 4.45 dt per ha (22.1%) than that under humid hydrothermal conditions. However, in no-tillage, the seed yield increases significantly with the increase in the hydrothermal coefficient. The relative differences between the dry and relatively dry periods and the optimal periods were plus 6 dt per ha (32.3%), and those between the optimal and wet periods were plus 5.5 dt per ha (22.4%). A reverse trend was noted in the oil content depending on the hydrothermal conditions during tillage and no-tillage cultivation, with the highest oil content in dry and relatively dry seasons in the tillage cultivation (22.5%) and in humid conditions in the no-tillage system (22.6%). Under optimal humidity conditions, the oil content of soybeans was at a similar level in both cultivation systems and averaged 22.3%. In terms of protein content in soybeans, a significant difference was observed between the tillage system at high hydrothermal coefficients compared to the no-tillage system and optimal humidity, ranging from 3.9% points. It is interesting that under conditions of dry and relatively dry weather, the protein content was at the same level regardless of the cultivation system (Figure 6).

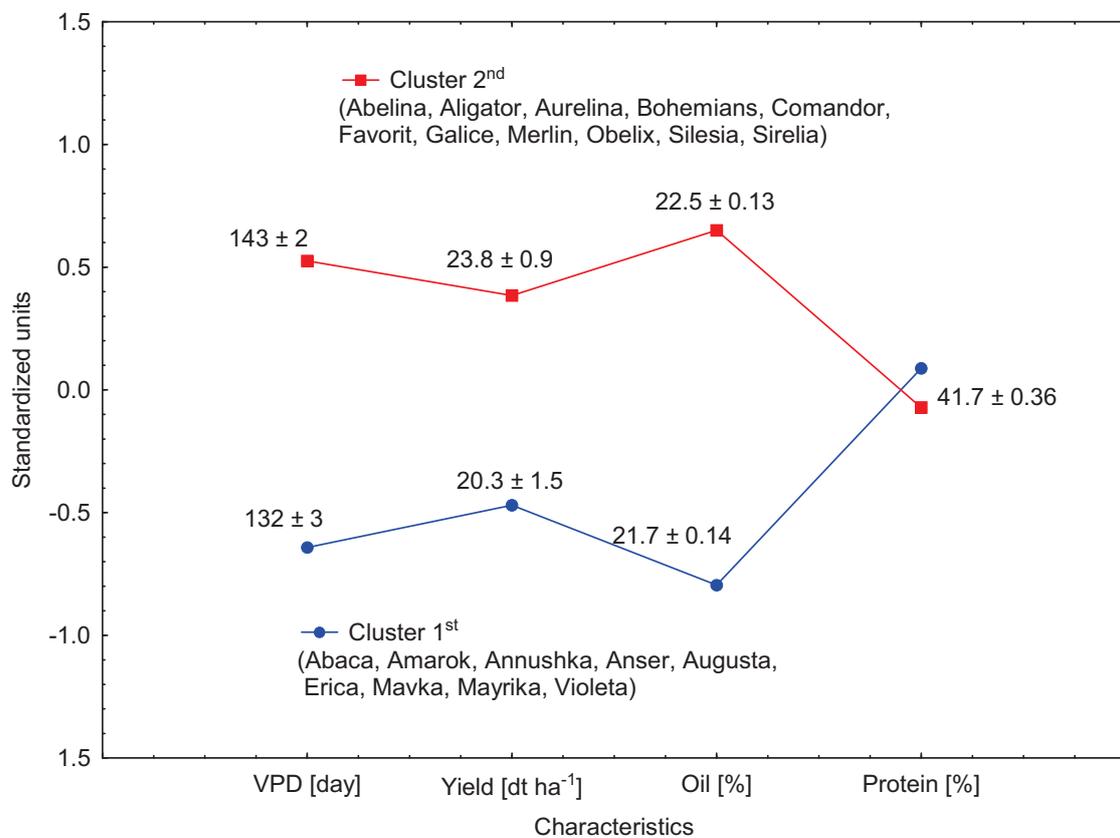


**Figure 6.** The effect of tillage/no-tillage system and hydrothermal conditions on soybean. Means  $\pm$  confidence intervals ( $p = 0.95$ ) of years and cultivars studied in 2018–2020 in Central Poland. # Various letters indicate the heterogeneous groups according to the HSD Tukey's test at  $p = 0.05$ .

### 3.4. Usefulness of Soybean Cultivars for the Cultivation System

Based on the  $k$ -means (CA) analysis, two clusters significantly different in terms of such characteristics as vegetation period in days (VPD), yield, and oil content were obtained, but they did not differ in protein content (Figure 7). Significantly higher seed yield and higher oil content provided the cultivars with an average VPD of  $143 \pm 2$  day (Abelina, Aligator, Aurelina, Bohemians, Comandor, Favorit, Galice, Merlin, Obelix, Sirelia and Silesia) compared to the cultivars grouped around VPD  $132 \pm 3$  day (Abaca, Amarok, Annushka, Answer, Augusta, Erica, Mavka, Mayrika, Violeta).

After grouping analysis, it turned out that soybean varieties have varying suitability for the cultivation system, which was confirmed on the basis of average values from the years of research and location. For the tillage system, the cultivars with VPD 143.8 were more useful in terms of yield, to which belong: Abelina, Amarok, Aurelina, Bohemians, Comandor, Favorit, Galice, Mavka, Obelix, Silesia and Sirelia. The cultivars in the tillage system did not differentiate with oil and protein content. Meanwhile, in no-tillage cultivation, the group of higher utility (including yield and oil content) consists of Abelina, Aligator, Bohemians, Comandor, Merlin, Obelix and Silesia with VPD 140.2 (Table 8).



**Figure 7.** Two clusters of soybean cultivars separated on the basis of the *k*-means cluster analysis. Means ± standard errors from the locations and research years 2018–2020 in Central Poland.

**Table 8.** Clusters of soybean cultivars in terms of vegetation period days, seed yield, oil content and protein content for tillage and no-tillage cultivation system. Means ± standard errors from the locations and research years 2018–2020 in Central Poland.

Characteristic	Tillage			No-Tillage		
	Cluster 1	Cluster 2	<i>p</i>	Cluster 1	Cluster 2	<i>p</i>
VPD (day)	128.3 ± 3.33	143.8 ± 1.31	<0.01	131.2 ± 6.55	140.2 ± 2.06	<0.05
Yield (dt ha <sup>-1</sup> )	19.5 ± 2.07	22.0 ± 0.84	<0.01	18.5 ± 2.49	27.3 ± 1.34	<0.01
Oil (%)	22.1 ± 0.15	22.3 ± 0.17	0.42	21.2 ± 0.45	22.6 ± 0.10	<0.01
Protein (%)	41.2 ± 0.55	42.2 ± 0.53	0.23	42.3 ± 1.33	41.9 ± 0.66	0.83
Cultivars	Abaca Annushka, Anser, Augusta, Erica, Mayrika, Merlin,	Abelina, Amarok, Aurelina Bohemians, Comandor, Favorit, Galice, Mavka, Obelix, Silesia, Sirelia,		Annushka, Mavka, Mayrika, Violetta,	Abelina, Aligator Bohemians, Comandor, Merlin, Obelix, Silesia,	

#### 4. Discussion

When starting this study, the UE common catalogue of agricultural plant cultivars (CCA) included 300 soybean varieties, while in Poland, there were 14 cultivars in the national variety register [37,38]. Currently, the number of cultivars has increased three-fold and reached 40 in the Polish catalogue. Thus, the hypothesis was put forward that progress in the selection of cultivars will also have practical significance for Central Poland. The demand for feed protein is covered only in 20% of domestic production. To reduce the import of soybean meal from GMOs, a national program was implemented for 2016–2020 in terms of increasing the use of domestic fodder protein for high production quality of animal products in conditions of sustainable development. It is a common idea of many European countries [39], with the main purpose of creating opportunities to increase the protein security of the country for feed and food purposes.

The original data of a three-year study in six locations in Central Poland allowed for the drawing of several important conclusions regarding the reaction of soybean yield to cultivar selection. Our study confirmed previous world reports [40,41] that the soybean response was primarily dependent on genetically fixed maturation, which we defined here as the vegetation period days (VPD). In the Central Poland region, the highest-yielding cultivars belong to group 3rd, where VPD was defined here between 130–142 day. This is an update until the recent opinion that in Poland, between 52nd and 53rd latitudes, in which the research was conducted, the soybean cultivars must be the early and medium-early group [42]. Moreover, a significant relationship was found on 20 soybean cultivars between VPD and yield, which indicated that each day of vegetation period extension (in the range 100–150 days) increased the yield by 20 kg per ha. Yield improvement of 26 soybean cultivars released over the past 50 years in southern Brazil was described by Umburanas et al. [41]. The average rate of yield gain was 45.9 kg per ha per year (relative growth 2.1%). The authors see this progress in breeding through attributes such as seed number per area and harvest index, less susceptibility to lodging, and reduced plant mortality. On the other hand, an American study confirmed that the main abiotic factors influencing soybean yield are solar radiation and the availability of rainfall [43]. According to American research, delaying soybean sowing causes a yield loss of 0.09 to 1.7% per day. It is known that the cultivars grown in America (Brazil, US) belong to the GM group, and the seed traits cannot be compared to the nGMO genotypes, although certain issues such as sowing delay or tendency to lodging may be discussed here, as a Polish study [44] also confirmed that delayed sowing leads to a significant decrease in yield. Our research was guided by the principle of adapting the soybean sowing date to the phenological phase of cherry bloom, which is convergent with the soil temperature needed for soybean germination in the range of 8 to 10 °C [17]. According to this rule, all plantations were sown within 10 d between 30 April and 9 May, which ensured the proper development of seedlings and further ontogenesis.

A study carried out in this region in 2000–2015 led to inconclusive results regarding thermal conditions for soybean [45]. First reports concluded that temporal variability concerning moderate and strong frosts in late spring increases the risk of soybean plantation disruption. We state that adapting soybean cultivars to the thermal conditions in Central Poland does not seem to be a problem; however, vegetal seasons with insufficient rainfall become problematic. Water conditions for soybean cultivation in Central Poland in this study and the variability of the hydrothermal coefficient confirmed the results of an intensified occurrence of drought [7]. The evidence of nine periods without precipitation or with low precipitation ranging from April to September 132–207 mm indicate drought syndrome. The obtained image of changes in the climatic risk for soybean cultivation in the area of Central Poland is generally consistent [46] and it confirms certain aspects of the theses related to climate warming [47]. This problem also occurs in other soy-growing regions, for example in the Krasnodar region, where the sum of active temperatures (above 10 °C) increased up to 218 °C/10 year and precipitations decreased down to 20.9 mm/10 year from 1987–2015 [48]. Generally, predictive models indicate precipitation decreasing in

southern Europe and increasing in northern Europe. Although, the position of the exact border line at which the positive or negative climate change signal starts is not certain; it varies over a broad band somewhere between mid-Scandinavia and the Alps, within which Poland is located [49].

Hydrothermal coefficient ( $K$ ), which combined two meteorological parameters, i.e., temperature and rainfall, based on our data and according to the trends recorded by Ziernicka-Wojtaszek and Kopicińska [36] was estimated. We believe that  $K$  is a convenient and appropriate solution in two aspects: 1. the pattern of temperature and precipitation expressed in one value of  $K$  alters two distributions into one, ready for the statistical analysis (multi regression, ANOVA, cluster analysis); 2. the incidences of space-time in four terms (dry, relatively dry, optimal humid, and humid) provide the rank classifications of entire periods, which are easy and legible to describe. In 2018, in all locations where the research was conducted,  $K$  indicated drought or relative drought. In 2019, the three locations were classified into dry and relatively dry conditions, and the three others had optimal humid conditions. In 2020, humid conditions for soybean were applied at all sites. We propose the “optimal humid” for soybean, when  $K = 1.3$ – $1.6$ , and “humid season” when  $K > 1.7$ . Actually, the most humid season in this investigation (with  $K = 2.4$ , at Jędrzejewo in 2020) did not reveal severity for soybean plantations, except for the need to dry soybeans up to 14% after harvest, which is standard practice for sale or storage seed. Such a weather pattern prompted us to analyze the soybean yield along with the hydrothermal coefficient, which is original and may be very useful in practice. We found a relationship between  $K$  and the yield of soybean that indicated an increase in yield of 120 kg per ha for each increase of 0.1 of  $K$ . A study in the Pennsylvania region showed that total rainfall is positively correlated with the yield of soybeans, and the determination ranges between 57–67%, with yield variability up to 72% in [50].

In response to drought stress, soybeans experience reduced growth to alleviate the stress effect and activate tolerance pathways to ensure an adjusted metabolism, which is similar to other plants, for combating drought stress [51,52]. The primary metabolites (carbohydrates, amino acids, lipids) are differentially accumulated in soybean leaves, although they decrease to a lesser extent than under heat stress [53]. Drought stress is mostly responsible for the accumulation of major carbohydrates, such as glucose, fructose, sucrose and raffinose, which indicates that in response to drought, soybean growth is restricted, and more carbohydrates are stored [54]. A study on drought-tolerant and drought-sensitive soybean cultivars indicated that under drought stress, more than 50% of genes related to various metabolic processes increased in expression independent of the tolerance factor [55]. In this study, protein and oil contents were investigated, as they are the two most important parameters of seeds of global usefulness for humans and animals. Soy protein is a more important component in the Polish market because most high-protein feeds come from soybeans. The analyses showed here that the percentage of protein in seeds depends on hydrothermal conditions and cultivar selection. Generally, in the humid season of 2020, the protein content was higher than that in the dry seasons of 2018 and 2019. Water stress reduces the protein content of soybeans and confirms the results of Borowska and Prusiński [56] with the temperature dependence of the protein content. Michałek and Borowski [57] showed that periodic drought increased the percentage of proteins with a significant differentiation of cultivars. This finding was reflected in our study in the case of cv. Bohemians and Silesia in 2018, although most of the 3rd quartile of protein content (>45%) was attributed by cv. Augusta, Erica, Amarok, Anser, Bohemians, and Sirelia, planted in 2020. The positive relationship between protein content and average daily temperature was described by Chen et al. [51]. Moreover, Novikova et al. [48] demonstrated that protein content has been increasing following longevity of the period with temperature above 22 °C and decreasing with a rise in precipitation over a period of temperature above 18 °C. We also found positive relation between protein content and hydrothermal coefficient  $K$  accompanying the seed yield.

The balance between protein and oil content is still weighty, as the trend of negative correlation between protein and oil contents in soybean seeds was found here ( $r = -0.45$ ), similar to the results described for Brazilian's cultivars [41]. The oil content in seeds was significantly varied between cultivars at the level of  $p = 0.05$  and was highly attributed to the cv. Bohemians, Galice, Merlin, Aligator, and Aurelina. China's studies showed that seed oil concentration increased significantly with soybean cultivar yield increase [58], while our results did not confirm this relationship. The accumulation of oil promoted by an increase of the hydrothermal coefficient over the period with temperatures above 19 °C and in late-maturing cultivars was prevented by a prolonged autumn period with temperature below 15 °C [48]. This coincides with current reports that late-maturing varieties have an increased oil content in the no-tillage system.

There are various practical systems to help farmers avoid stressful circumstances. To minimize the late season drought stress effect on yield, Chebrolu et al. [59] proposed shifting the planting and harvest times by incorporating maturity, groups III–V, in soybean cultivation. A study conducted in one location in southeastern Poland in 2014–2017 provided data on the tillage/no-tillage treatment and monoculture/crop rotation practice on soybean cv. Merlin [60]. Authors declare that the seed yield was higher by 10.3% in tilled soil compared to the no-tilled and by 5% in monoculture than in rotation. Our experiments were conducted at six locations in various soil and hydrothermal conditions on 20 cultivars in the crop rotation system. We obtained a more complex pattern of tillage/no-tillage effects depending on the hydrothermal coefficient. In no-tillage soil, the yield of soybean constantly increased with increasing  $K$  (32.3% and 22.4%), while in tillage soil, the yield increased only when  $K$  rose from optimal to humid (22.1%) conditions. In areas with low rainfall, it is important to practice water conservation cultivation to ensure retention of the highest amount of rainwater. No-tillage practices involving the replacement of the plow with implements that do not turn the soil over offer this possibility to agricultural producers. No-tillage performs best in a dry climate, and crop yields are often equal to or higher than those obtained under conventional tillage [61]. Inconclusive results are found regarding the tillage system on the oil and protein content. Under no-tillage conditions, a higher seed protein content and a lower fat content were found in the case of cv. Merlin cultivated in southeastern Poland [60]. However, an increase in fat yield per hectare for non-tilled soybean has also been obtained [62,63]. The crucial issue of protein and oil content in relation to seed yield and agronomic and hydrothermal conditions should be considered. We found that no-tilled soybean produced more oil in seeds in the seasons with optimum and humid conditions, while in the season of dry conditions, the opposite trend was found with the greater oil content in the tillage system. Meanwhile, a higher protein content was observed in the tillage system under humid conditions. The soybean cultivars studied here showed high variability in yield and protein and oil contents. An important finding from this study is that the new nGMO cultivars maintain genetically high protein levels with increasing yields. The genetic disposition of the oil varies to a much lesser extent than that of the protein and is less susceptible to variation depending on weather conditions. This may be a good perspective for the further development of soybean production in Central Poland.

## 5. Conclusions

The novelty of this research is a proposal for the evaluation of soybean cultivars for tillage and no-tillage systems suitable for the region of Central Poland. Considering that seed yielding, protein and oil content are economically important, and their level varies between cultivars depending on the type of soil cultivation, decisions should be made skillfully in relation to the selection. It is very important to be able to recognize and evaluate this uncertainty by examining the temporal variability of climatic and agroclimatic indicators in terms of agricultural practice in this area. This is essential for the consideration of adaptation to future climatic conditions in this region. As a result of changes in the global climate, the zones for cultivation of specific soybean cultivars can be shifted. As

the choice of soybean cultivars alters the underlying of protein and oil for farmers, it is important to understand these changes to develop adaptation strategies for resources and development planning.

**Author Contributions:** Conceptualization, A.W.-P.; Formal analysis, A.W.-P. and K.A.; Investigation, A.W.-P.; Methodology, A.W.-P.; Project administration, K.A.; Software, A.W.-P. and K.A.; Supervision, K.A.; Visualization, A.W.-P.; Writing—original draft, A.W.-P. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

**Funding:** Project financed by European Union funds, grant number 00003.DDD.6509.00029.2017.02, title “Soybeans in Kujawy-Pomerania and Wielkopolska—innovative solutions in the cultivation and feeding on farms”.

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

**Informed Consent Statement:** Not applicable.

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

## References

- Hymowitz, T. Soybeans: The Success Story. In *Advances in New Crops, Proceedings of the First National Symposium “New Crops: Research, Development, Economics”*, Indianapolis, IN, USA, 23–26 October 1988; Timber Press: Portland, OR, USA, 1990; pp. 159–163.
- Helferich, W.G.; Andrade, J.E.; Hoagland, M.S. Phytoestrogens and Breast Cancer: A Complex Story. *Inflammopharmacology* **2008**, *16*, 219–226. [CrossRef] [PubMed]
- Statistical Yearbook World Food and Agriculture. 2020. Available online: <https://www.fao.org/3/cb1329en/online/cb1329en.html> (accessed on 6 July 2022).
- Hartman, G.L.; West, E.D.; Herman, T.K. Crops That Feed the World Soybean-Worldwide Production, Use, and Constraints Caused by Pathogens and Pests. *Food Secur.* **2011**, *3*, 5–17. [CrossRef]
- Twardowski, T.; Małyska, A.; Gracz, J.; Tyczewska, A. Soja Przyszłością Polskiego Rolnictwa? *Nauka* **2014**, *4*, 121–138.
- Lewandowska, S. Perspectives of soybean cultivation in Poland. In Proceedings of the Perspectives of Soybean Cultivation in Poland, Krzyżowa, Poland, 5 July 2016.
- Alexandratos, N.; Bruinsma, J. *World Agriculture towards 2030/2050: The 2012 Revision*; ESA Working paper No. 12-03; FAO: Rome, Italy, 2012.
- Hemingway, J.; Eskandari, M.; Rajcan, I. Genetic and Environmental Effects on Fatty Acid Composition in Soybeans with Potential Use in the Automotive Industry. *Crop Sci.* **2015**, *55*, 658–668. [CrossRef]
- Shaw, E.J.; Rajcan, I. Molecular Mapping of Soybean Seed Tocopherols in the Cross ‘OAC Bayfield’ × ‘OAC Shire’. *Plant Breed* **2017**, *136*, 83–93. [CrossRef]
- SOYSTAT. Available online: <http://soystats.com/> (accessed on 6 July 2022).
- EC. *Report from the Commission to the Council and the European Parliament on the Development of Plant Proteins in the European Union*; European Commission: Brussels, Belgium, 2018.
- Brzóska, F.; Śliwa, J. Non-gm soybean—production and possible use in animal feeding in Poland. Part, I. Soy in the fodder balance and its cultivation in Poland. *Wiadomości Zootech.* **2016**, *54*, 98–100.
- Liu, K. Chemistry and Nutritional Value of Soybean Components. In *Soybeans*; Springer: Boston, MA, USA, 1997; pp. 25–113. ISBN 978-1-4613-5711-7.
- Sanders, T.A.B. *Functional Dietary Lipids: Food Formulation, Consumer Issues and Innovation for Health*; Woodhead Publishing: Sawston, UK, 2016; ISBN 978-1-78242-257-0.
- Polska Soja—Popularyzacja Uprawy Soi Na Terenie Polski. Available online: [https://www.polskasoja.pl/asp/pl\\_start.asp?typ=13&menu=1&strona=1](https://www.polskasoja.pl/asp/pl_start.asp?typ=13&menu=1&strona=1) (accessed on 6 July 2022).
- Jarecki, W.; Bobrecka-Jamro, D. Wpływ nawożenia dolistnego na plon i skład chemiczny nasion soi (*Glycine max* (L.) Merrill). *Fragm. Agron.* **2015**, *32*, 22–31.
- Jerzak, M.A.; Czerwińska-Kayzer, D.; Florek, J.; Śmiglak-Krajewska, M. Determinanty produkcji roślin strączkowych jako alternatywnego źródła białka-w ramach nowego obszaru polityki rolnej w Polsce. *Rocz. Nauk. Rolniczych. Ser. G Ekon. Rol.* **2012**, *99*, 113–120.
- Latawiec, A.E.; Koryś, A.; Koryś, K.A.; Kuboń, M.; Sadowska, U.; Gliniak, M.; Sikora, J.; Drosik, A.; Niemiec, M.; Klimek-Kopyra, A.; et al. Economic Analysis of Biochar Use in Soybean Production in Poland. *Agronomy* **2021**, *11*, 2108. [CrossRef]
- Ball, B.C.; Lang, R.W.; Robertson, E.A.G.; Franklin, M.F. Crop Performance and Soil Conditions on Imperfectly Drained Loams after 20–25 Years of Conventional Tillage or Direct Drilling. *Soil Tillage Res.* **1994**, *31*, 97–118. [CrossRef]
- López-Fando, C. Interactive Effects of Tillage and Crop Rotations on Yield and Chemical Properties of Soils in Semi-Arid Central Spain. *Soil Tillage Res.* **1995**, *36*, 45–57. [CrossRef]
- Kęsik, T.; Blazewicz-Wozniak, M.; Konopinski, M.; Wach, D.; Mitura, R. The effect of cover crop mulches and reduced soil tillage in onion cultivation on some features of soil. *Rocz. Akad. Rol. Poznaniu. Ograd.* **2007**, 517–521.

22. Kang, Y.; Khan, S.; Ma, X. Climate Change Impacts on Crop Yield, Crop Water Productivity and Food Security—A Review. *Prog. Nat. Sci. Mater. Int.* **2009**, *12*, 1665–1674. [CrossRef]
23. Hama, J.R.; Kolpin, D.W.; LeFevre, G.H.; Hubbard, L.E.; Powers, M.M.; Strobel, B.W. Exposure and Transport of Alkaloids and Phytoestrogens from Soybeans to Agricultural Soils and Streams in the Midwestern United States. *Environ. Sci. Technol.* **2021**, *55*, 11029–11039. [CrossRef] [PubMed]
24. Żarski, J.; Kuśmierk-Tomaszewska, R.; Dudek, S. Trends of Changes in Climate Risk of Grain Maize Cultivation in the Bydgoszcz Region. *Infrastrukt. Ekol. Teren. Wiej.* **2016**, *III/1*, 725–735.
25. Leng, G.; Zhang, X.; Huang, M.; Asrar, G.R.; Leung, L.R. The Role of Climate Covariability on Crop Yields in the Conterminous United States. *Sci. Rep.* **2016**, *6*, 33160. [CrossRef] [PubMed]
26. Stuczynski, T.; Demidowicz, G.; Deputat, T.; Górski, T.; Krasowicz, S.; Kuś, J. Adaptation Scenarios of Agriculture in Poland to Future Climate Changes. *Environ. Monit. Assess.* **2000**, *61*, 133–144. [CrossRef]
27. Kozyra, J.; Doroszewski, A.; Nieróbca, A. *Climate Change and Its Expected Impact on Agriculture in Poland*; IUNG-PIB: Puławy, Poland, 2017.
28. Żmudzka, E. Long-term changes of thermal resources in the vegetative period and the active growth of plants in Poland. *Woda Środowisko Obszary Wiejskie* **2012**, *12*, 377–389.
29. Déqué, M.; Rowell, D.P.; Lüthi, D.; Giorgi, F.; Christensen, J.H.; Rockel, B.; Jacob, D.; Kjellström, E.; de Castro, M.; van den Hurk, B. An Intercomparison of Regional Climate Simulations for Europe: Assessing Uncertainties in Model Projections. *Clim. Chang.* **2007**, *81*, 53–70. [CrossRef]
30. Wibig, J.; Glowicki, B. Trends of Minimum and Maximum Temperature in Poland. *Clim. Res.* **2002**, *20*, 123–133. [CrossRef]
31. Anders, I.; Stagl, J.; Auer, I.; Pavlik, D. Climate Change in Central and Eastern Europe. In *Managing Protected Areas in Central and Eastern Europe under Climate Change*; Rannow, S., Neubert, M., Eds.; Advances in Global Change Research; Springer: Dordrecht, The Netherlands, 2014; pp. 17–30. ISBN 978-94-007-7960-0.
32. Rincker, K.; Nelson, R.; Specht, J.; Slepser, D.; Cary, T.; Cianzio, S.R.; Casteel, S.; Conley, S.; Chen, P.; Davis, V.; et al. Genetic Improvement of U.S. Soybean in Maturity Groups II, III, and IV. *Crop Sci.* **2014**, *54*, 1419–1432. [CrossRef]
33. De Bruin, J.; Pedersen, P. Growth, Yield, and Yield Component Changes among Old and New Soybean Cultivars. *Agron. J.* **2009**, *101*, 124–130. [CrossRef]
34. Cober, E.R.; Morrison, M.J. Genetic Improvement Estimates, from Cultivar × Crop Management Trials, Are Larger in High-Yield Cropping Environments. *Crop Sci.* **2015**, *55*, 1425–1434. [CrossRef]
35. AOAC. *Official Methods of Analysis*, 15th ed.; Association of Official Analytical Chemists: Washington, DC, USA, 1990.
36. Ziernicka-Wojtaszek, A.; Kopcińska, J. Variation in Atmospheric Precipitation in Poland in the Years 2001–2018. *Atmosphere* **2020**, *11*, 794. [CrossRef]
37. EUR-Lex-C:2016:450:TOC-PL-EUR-Lex. Available online: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/?uri=OJ%3AC%3A2016%3A450%3ATOC> (accessed on 6 July 2022).
38. Centralny Ośrodek Badania Odmian Roślin Uprawnych, COBORU. Available online: <http://www.coboru.gov.pl/> (accessed on 6 July 2022).
39. Sudarić, A. Introductory Chapter. In *Soybean—Quality and Utilization*; IntechOpen: London, UK, 2020; ISBN 978-1-83881-019-1.
40. Karges, K.; Bellgrath-Kimura, S.D.; Watson, C.A.; Stoddard, F.L.; Halwani, M.; Reckling, M. Agro-economic prospects for expanding soybean production beyond its current northerly limit in Europe. *Europ. J. Agron.* **2022**, *133*, 126415. [CrossRef]
41. Umburanas, R.C.; Kawakami, J.; Ainsworth, E.A.; Favarin, J.L.; Anderle, L.Z.; Dourado-Neto, D.; Reichardt, K. Changes in Soybean Cultivars Released over the Past 50 Years in Southern Brazil. *Sci. Rep.* **2022**, *12*, 508. [CrossRef]
42. Śliwa, J.; Zajac, T.; Oleksy, A.; Klimek-Kopyra, A.; Lorenc-Kozik, A.; Kulig, B. Comparison of the Development and Productivity of Soybean (*Glycine Max* (L.) Merr.) Cultivated in Western Poland. *Acta Sci. Pol. Agric.* **2015**, *14*, 81–95.
43. Salmerón, M.; Purcell, L.C. Simplifying the Prediction of Phenology with the DSSAT-CROPGRO-Soybean Model Based on Relative Maturity Group and Determinacy. *Agric. Syst.* **2016**, *148*, 178–187. [CrossRef]
44. Serafin-Andrzejewska, M.; Helios, W.; Jama-Rodzeńska, A.; Kozak, M.; Kotecki, A.; Kuchar, L. Effect of sowing date on soybean development in south-western Poland. *Agriculture* **2021**, *11*, 413. [CrossRef]
45. Żarski, J.; Kuśmierk-Tomaszewska, R.; Dudek, S.; Kropkowski, M.; Kledzik, R. Identifying Climatic Risk to Soybean Cultivation in the Transitional Type of Moderate Climate in Central Poland. *J. Cent. Eur. Agric.* **2019**, *20*, 143–156. [CrossRef]
46. Januszewska-Kłapa, K. Tendencies of Changes in the Climatic Risk of Growing Crops in Selected Locations of the Kujawsko-Pomorskie Province. Ph.D. Thesis, University of Life Science and Technology in Bydgoszcz, Bydgoszcz, Poland, 2016.
47. Starkel, L.; Kundzewicz, Z.W. Consequences of Climate Change for Spatial Organization of Poland. *Nauka* **2008**, *1*, 85–101.
48. Novikova, L.Y.; Seferova, I.V.; Nekrasov, A.Y.; Perchuk, I.N.; Shelenga, T.V.; Samsonova, M.G.; Vishnyakova, M.A. Impact of weather and climate on seed protein and oil content of soybean in the North Caucasus. *Vavilov. J. Genet. Breed.* **2018**, *22*, 708–715. [CrossRef]
49. Christensen, O.B.; Goodess, C.M.; Harris, I.; Watkiss, P. European and Global Climate Change Projections. Available online: <https://www.weadapt.org/knowledge-base/economics-of-adaptation/climatecost-tpbn-1> (accessed on 6 July 2022).
50. Faé, G.S.; Kemanian, A.R.; Roth, G.W.; White, C.; Watson, J.E. Soybean Yield in Relation to Environmental and Soil Properties. *Eur. J. Agron.* **2020**, *118*, 126070. [CrossRef]

51. Chen, W.; Yao, Q.; Patil, G.B.; Agarwal, G.; Deshmukh, R.K.; Lin, L.; Wang, B.; Wang, Y.; Prince, S.J.; Song, L.; et al. Identification and Comparative Analysis of Differential Gene Expression in Soybean Leaf Tissue under Drought and Flooding Stress Revealed by RNA-Seq. *Front. Plant Sci.* **2016**, *7*, 1044. [[CrossRef](#)]
52. Xoconostle-Cázares, B.; Ramírez-Ortega, F.A.; Flores-Elenes, L.; Ruiz-Medrano, R. Drought Tolerance in Crop Plants. *Am. J. Plant Physiol.* **2010**, *5*, 241–256. [[CrossRef](#)]
53. Das, A.; Rushton, P.J.; Rohila, J.S. Metabolomic Profiling of Soybeans (*Glycine max*, L.) Reveals the Importance of Sugar and Nitrogen Metabolism under Drought and Heat Stress. *Plants* **2017**, *6*, 21. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
54. Myers, J.A.; Kitajima, K. Carbohydrate Storage Enhances Seedling Shade and Stress Tolerance in a Neotropical Forest. *J. Ecol.* **2007**, *95*, 383–395. [[CrossRef](#)]
55. Ferreira Neto, J.R.C.; Pandolfi, V.; Guimaraes, F.C.M.; Benko-Iseppon, A.M.; Romero, C.; Silva, R.L.D.O.; Rodrigues, F.A.; Abdelnoor, R.V.; Nepomuceno, A.L.; Kido, E.A. Early Transcriptional Response of Soybean Contrasting Accessions to Root Dehydration. *PLoS ONE* **2013**, *8*, e83466. [[CrossRef](#)]
56. Borowska, M.; Prusiński, J. Effect of soybean cultivars sowing dates on seed yield and its correlation with yield parameters. *Plant Soil Environ.* **2021**, *67*, 360–366. [[CrossRef](#)]
57. Michałek, S.; Borkowski, E. Yielding, oil, fatty acids and protein content in the seeds of polish soybean cultivars under drought conditions. *Acta Agroph.* **2006**, *8*, 459–471.
58. Qin, X.; Feng, F.; Li, D.; Herbert, S.J.; Liao, Y.; Siddique, K.H.M.; Qin, X.; Feng, F.; Li, D.; Herbert, S.J.; et al. Changes in Yield and Agronomic Traits of Soybean Cultivars Released in China in the Last 60 Years. *Crop Pasture Sci.* **2017**, *68*, 973–984. [[CrossRef](#)]
59. Chebrolu, K.K.; Fritschi, F.B.; Ye, S.; Krishnan, H.B.; Smith, J.R.; Gillman, J.D. Impact of Heat Stress during Seed Development on Soybean Seed Metabolome. *Metabolomics* **2016**, *12*, 28. [[CrossRef](#)]
60. Gawęda, D.; Nowak, A.; Haliniarz, M.; Woźniak, A. Yield and Economic Effectiveness of Soybean Grown Under Different Cropping Systems. *Int. J. Plant Prod.* **2020**, *14*, 475–485. [[CrossRef](#)]
61. Pittelkow, C.M.; Linquist, B.A.; Lundy, M.E.; Liang, X.; van Groenigen, K.J.; Lee, J.; van Gestel, N.; Six, J.; Venterea, R.T.; van Kessel, C. When Does No-till Yield More? A Global Meta-Analysis. *Field Crops Res.* **2015**, *183*, 156–168. [[CrossRef](#)]
62. Gao, J.; Hao, X.; Thelen, K.; Robertson, G.P. Agronomic Management System and Precipitation Effects on Soybean Oil and Fatty Acid Profiles. *Crop Sci.* **2009**, *49*, 1049–1057. [[CrossRef](#)]
63. Di Mauro, G.; Borrás, L.; Rugeroni, P.; Rotundo, J.L. Exploring soybean management options for environments with contrasting water availability. *J. Agron. Crop Sci.* **2019**, *205*, 274–282. [[CrossRef](#)]



Ambroziak, K., Wenda-Piesik, A. and Kozera, W. (2023)  
'Regulating the plant density influences to the weed infestation, productivity  
and chemical composition of seeds of true hemp *Cannabis sativa* L.'  
*Journal of Elementology*, 28(3), 619-631,  
<https://doi.org/10.5601/jelem.2023.28.3.2425>



RECEIVED: 15 June 2023

ACCEPTED: 17 August 2023

ORIGINAL PAPER

## Regulating the plant density influences weed infestation, productivity and chemical composition of seeds of true hemp *Cannabis sativa* L.

Krystian Ambroziak<sup>1</sup>, Anna Wenda-Piesik<sup>1</sup>, Wojciech Kozera<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Department of Agronomy

<sup>2</sup> Department of Biogeochemistry and Soil Science

Bydgoszcz University of Science and Technology, Bydgoszcz, Poland

### Abstract

The article focuses on the cultivation of hemp (*Cannabis sativa* L.) for seed production, specifically examining the effects of different seeding densities and herbicidal control on weed infestation, plant characteristics, and nutrient content in the seeds. Hemp is a versatile plant known for its fiber and oil production, including health-promoting cannabinoids. The study utilizes a Romanian monoecious variety called Secuieni Jubileu, which has low THC content and is suitable for seed cultivation. The experiment compares three treatments: sowing at a density of 20 kg ha<sup>-1</sup> with herbicide, sowing at a density of 30 kg ha<sup>-1</sup> with herbicide, and sowing at a density of 30 kg ha<sup>-1</sup> without herbicide. The results indicate significant differences in weed density among the treatments, with herbicide application and higher seeding density reducing weed populations. Plant height, number of leaves, and seed fraction also varied significantly among the treatments, with higher seeding density (30 kg ha<sup>-1</sup>) resulting in higher plants, decreased leaf number and with the predominant fraction of 2.5 mm in the seeds. The experimental factor also significantly differentiated the macro- and micronutrient content of hemp seeds. Nutrient content analysis revealed variations in nitrogen, potassium, phosphorus, and magnesium levels in the hemp seeds, depending on the experimental treatments. Overall, the study highlights the importance of seeding density and herbicidal control in hemp cultivation for seed production. The findings suggest that higher seeding density can effectively suppress weed growth, whereas the yield and the high ratio of seed fraction at 2.8 mm is attributed to herbicide control and seed density of 20 kg ha<sup>-1</sup>. The research contributes to the understanding of optimal cultivation practices for hemp seed production, aiming to support stable, efficient, and profitable agricultural production in the field.

**Keywords:** hemp, herbicides, sowing density, macroelements, weed control

Krystian Ambroziak, MSc, Department of Agronomy, Faculty of Agricultura and Biotechnology, Bydgoszcz University of Science and Technology, Al. prof. S. Kaliskiego 7, 85-796 Bydgoszcz, Building E, Room E311, Poland, e-mail: [krystian.ambroziak@pbs.edu.pl](mailto:krystian.ambroziak@pbs.edu.pl)  
The source of funding (own funding)

## INTRODUCTION

Hemp (*Cannabis sativa* L.) belongs to the cannabis family Cannabaceae. This species is derived from wild cannabis that originally grew in Central Asia and south-eastern Europe (Jagmin 1949). There are two subspecies of hemp - *Cannabis sativa* ssp. *sativa* and *Cannabis sativa* ssp. *indica*. Some sources also provide a third taxon, the wild cannabis (*C. ruderalis*, *C. sativa* var. *spontanea*) – Dzierżanowski (2018). In the pre-Slavic era in Poland, hemp was mainly a fiber plant, and the remaining products (e.g. seeds) could be called the side-products of hemp production (Podbielkowski 1992). Nowadays, hemp is widely grown not only for fiber, but also to obtain hemp oil, which contains large amounts of health-promoting cannabinoids (Pellati et al. 2018).

Due to the content of  $\Delta^9$ -tetrahydrocannabinol (THC) and cannabidiol (CBD), we divide cannabis into three separate phenotypes: (i) narcotic – when the THC content is above 0.5% and the CBD content is below 0.5%, (ii) indirect – in the case of this phenotype it is difficult to set strict limits, because the proportions may be different (the amount of CBD is dominant, but THC is also present in different concentrations), (iii) fibrous – cannabis varieties with a reduced amount of THC. For the cultivation of industrial hemp to be legal, the THC content should be no more than 0.3% (Commission Regulation (EU) 2022). It should be emphasized that THC, the content of which largely determines the narcotic properties of cannabis, in its natural form is not a psychoactive substance (Horanin and Bryndal 2017, Silska 2017). The original form of THCA ( $\Delta^9$ -tetrahydrocarboxylic acid) turns into psychoactive THC only when the cannabis is exposed to high temperatures, such as when boiled or heated (smoked). Moreover, THC can reduce muscle tension, and has anti-inflammatory and analgesic properties (Truta et al. 2009).

Hemp has phytoremediation properties, thanks to which it is perfect for a polluted environment (Cierpucha et al. 2013, Mańkowski et al. 2014). Currently, soil conditions can be improved through the use of proper practices, therefore this plant will grow wherever we take care of the appropriate content of the humus layer, nitrogen and lime content (Grabowska et al. 2007). Deep, well-drained soils with a water level above 800 mm, neutral and slightly alkaline pH, well insulated and free from water stagnation are optimal condition for its cropping (Ronkiewicz 2018). Hemp has an extensive root system, which can reach up to 3 meters into the ground, which makes it possible to minimize the risk of drought stress, as the plant can freely take up water accumulated in the deeper layers of the soil (Zadrożniak et al. 2017). As a thermophilic crop, during the vegetation period – which lasts on average 135 days – hemp can absorb heat reaching the sum of the effective temperatures of 3,000 degrees Celsius. However, to ensure water demand of cannabis during the growing season, rainfall of 250-300 mm is needed.

The optimal sowing depth is 3-4 cm (Amaducci et al. 2008) and to adjust the sowing density to the expected yield of seed, use of 10 to 15 kg of seeds per hectare should be applied. This value is definitely lower than in the case of hemp cultivation for fiber, where the optimal sowing density is considered to be 60 to 70 kg ha<sup>-1</sup> (Grabowska et al. 2007).

Weeds in hemp cultivation fields are mainly controlled in two ways: mechanically and chemically. Mechanical weeding requires more work, but is considered an effective method of fighting weed infestation (Robak et al. 2012). The authors proved that mechanical weeding is becoming more and more important because it is considered to be an environmentally safe method, and modern machines mean that at the same time this method allows for a significant reduction of weed populations.

In the case of hemp, an effective and approved weed control agent is Boxer 800 EC. The recommended dose of this agent is from 3 to 4 L ha<sup>-1</sup> of cultivation. The herbicide is applied approximately three days post sowing in the soil application. The active ingredient of the herbicide is prosulfocarb. Boxer 800 EC is effective in controlling not only dicotyledonous weeds, but it also reduces the population of monocotyledonous weeds (Wójtowicz et al. 2018). Prosulfocarb (C<sub>14</sub>H<sub>21</sub>NOS) is an active substance from the group of thiocarbamates absorbed in two ways by plants, either through the seed coat or directly through the root system, along with the nutrients. The substance is absorbed by sprouting weeds (Tanski, Idziak 2010).

Prosulfocarb works by blocking the formation of fatty acids so that weeds die quickly. In field studies, it has been shown that the half-life of the agent in soil ranges from 6 to 13 days. Ecotoxicological studies prove that this agent – depending on its concentration – shows low or moderate toxicity to animals and humans (Lewis et al. 2016).

Due to the growing demand for organic products and natural medicinal substances (including CBD cannabidiol oil), the cultivation of hemp is again becoming increasingly popular, although the hemp fields still account for only a fraction of a percent of all agricultural land. Chemical weed control methods are effective, but it cannot be denied that they are both costly and can pose a threat to the environment. An alternative to herbicides could be to apply a higher seeding density, which can give cannabis an advantage over expansive weeds. The search for the most effective methods in the cultivation of hemp that ensure stable, efficient and profitable production of its seeds is one of the challenges of modern field production of agricultural crops. Hemp seeds contain a list of physiologically valuable components, thanks to which they are a priority raw material in the production of functional foods. The unique biochemical composition of hemp seeds opens up opportunities for the extraction and use of individual nutrients in the composition of new generation food products (Miščenko, Lajko 2018) laboratory (thin-layer chromatography. In a recent study conducted in Nigeria, a rough analysis of the mineral, phytochemical and functional composition of hemp

was investigated. The average values of various parameters for the approximate composition were as follows: moisture content (5.60+0.05), ash content (6.50+0.01), fiber content (18.85+0.20), fat content (30.43+0.03), crude protein (25.45+0.02) and finally carbohydrate (13.12+0.01) for raw samples respectively. Minerals ( $\text{mg kg}^{-1}$ ) include: potassium (8.75+0,01), calcium (18.60+0.35), sodium (7.52+0.02), magnesium (14.10+0.03), zinc (2.10+0,02), lead (0.05+0.01). The macronutrients and micronutrients are required for the optimal functioning of physiological and biochemical process in the body (Osanyinlusi, Beauty 2023).

The research hypothesis was that hemp cultivation could be regulated by higher sowing densities with or without herbicide use. The aim of the study was to check the impact of canopy density from 20 to 30 kg of seeds per ha on the weed infestation effect, seed productivity and the content of macro- and microelements in hemp seeds.

## MATERIALS AND METHODS

### Characteristic of the hemp variety

Hemp of Secuieni Jubileu, a Romanian monoecious variety, was selected for cultivation. This variety is recommended for the cultivation of hemp for seeds. The plant reaches an average height of 1.5 to 2 m and blooms in late July and early August. Thanks to the THC content below 0.2%, it was entered into the European catalog of official varieties of agricultural plants. The CBD content is about 0.5%. The most important features of the Secuieni Jubileu variety declared by the producer are as follows: vegetation growth 100 days, oil content 28-32%, fiber content 30-32%, biomass 60-80 dt ha<sup>-1</sup>, seed yield 8-20 dt ha<sup>-1</sup>, TSW 16-18 g.

### Experiment

A field experiment in 2021-2022 was located on medium clayey soils, slightly acidic, pH approx. 6.5. Before sowing, content of assimilable forms of minerals ( $\text{mg 100 g}^{-1}$  of soil) were: phosphorus (P) – 34.0 mg, potassium (K) – 18.7 mg, magnesium (Mg) – 5.8 mg.

Three experimental treatments were studied:

- sowing at a density of 20 kg ha<sup>-1</sup> with the use of herbicide (+ H),
- sowing at a density of 30 kg ha<sup>-1</sup> with the use of herbicide (+ H),
- sowing at a density of 30 kg ha<sup>-1</sup> without herbicide.

A traditional seeder with a row spacing of 12 cm and a sowing depth of 3 cm was used for sowing. The soil herbicide was applied 3 days after sowing. The herbicide Boxer 800 EC (3 L ha<sup>-1</sup>), whose active substance is prosulfocarb, was used for the weeding treatment. This herbicide is a selective

agent, adapted to removing monocotyledonous and dicotyledonous weeds. According to the application label, Boxer 800 EC is the only herbicide dedicated to weed control in hemp cultivation. Hemp was sown in the first ten days of May, harvested in the third ten days of September 2021. The preceding crop was hemp cultivated for seeds. No mineral or organic fertilization was applied before sowing. In the first half of June, a dose of nitrogen Yarabela Extran was applied to the entire area of the experiment at a dose of 150 kg ha<sup>-1</sup>. A rotary hoe treatment was also carried out on all plots in order to level the canopy and eliminate the newly emerging weeds. The area of each plot was 28 ares and the experiment was carried out in three replicates. Harvesting was done in one stage with a combine harvester at BBCH 93 phase. Yield was determined after pre-cleaning and drying the seeds on a floor dryer to a moisture content below 10%. The thousand seed weight was calculated manually for each plot after reducing each sample on the splitter to a value of approximately 200 grams. The density of hemp plants was measured in 10 repetitions by multiplying the number of plants in one running meter by 8 rows, thus obtaining the density per m<sup>2</sup>.

## **Chemical analysis of plant material**

### **Samples**

Seed samples were wet mineralized in concentrated sulfuric acid, and the content of total nitrogen was determined based on a modified Berthelot reaction. In brief, after dialysis against a buffer solution of pH 5.2, ammonia in the sample is chlorinated to monochloramine, which reacts with salicylate to form 5-aminosalicylate. Following oxidation and oxidative coupling, a green complex is formed. The absorption of the complex is measured at 660 nm (Skalar SANplus flow analyser), and total phosphorus is determined with the method employing ammonium molybdate (Skalar SANplus flow analyser). The content of potassium, calcium and sodium was determined by flame photometry, and that of magnesium was assayed with the Atomic Absorption Spectrometry (AAS) method.

The content of Mn, Fe, Zn and Cu in grain was determined by standard atomic absorption spectrometry (ASA), following mineralization in a mixture of concentrated hydrochloric and nitric acids in a 1:3 ratio. ASA was carried out using a VARIAN AA240FS fast sequential atomic absorption spectrometer.

### **Statistical analysis**

Data on hemp plant density, weed infestation, plant height and number of leaves per hemp plant, as well as the content of macro- and microelements were analyzed for compliance of the distribution with the normal distribution using the Shapiro-Wilk test. In the case of deviations from the normal distribution (numbers of the weeds), a transformation by the square root

of the second degree was applied. Normalized data were recalculated by analysis of variance in order to verify the null hypothesis assuming no differences between the experimental objects in the intensity of occurrence of individual features. For this purpose, the one-way ANOVA test,  $F$ , was used at the significance level of  $p=0.05$ . In a situation where the significance of the influence of the tested experimental factor on the intensity of the feature was proven, a comparison of the object averages was performed using the Tukey's HSD test, for  $p=0.05$ .

## RESULTS AND DISCUSSION

Significant differences in weed density between the experimental objects ( $F$  value 3.47 - 32.49;  $p<0.05$ ) concerned the following species: *Euphorbia helioscopia*, *Thlaspi arvense*, *Artemisia vulgaris*, and *Geranium pusillum* (Figure 1). It can be seen that at the sowing density of 30 kg ha<sup>-1</sup> without the use of herbicide, three species of weeds definitely dominated the experimental plot: *Thlaspi arvense*, *Artemisia vulgaris*, and *Geranium pusillum* (Figure 1). On the experimental plot with a sowing density of 20 kg ha<sup>-1</sup> and with the application of the herbicide, a smaller number of weeds counted in individual repetitions was observed. Field bundles appeared most often with an average frequency of 8.4 weeds per m<sup>2</sup>. On a trial plot with a seeding density of 30 kg ha<sup>-1</sup>, herbicide application resulted in an average of 5.3 weeds per m<sup>2</sup> frequency (Figure 1).

Significant differences in our research were shown in the height of plants between the study groups. Plants from the groups with a sowing density of 30 kg ha<sup>-1</sup> were higher due to the competition for light and differed significantly in height compared to the group with a sowing dose of 20 kg ha<sup>-1</sup>. The competitiveness for sunlight is confirmed by a highly statistically significant difference in the number of leaves on the lowest plants sown at a seeding density of 20 kg ha<sup>-1</sup>. Highly significant differences were also found in seed yield. Each group was significantly different from others. The highest yield was recorded in the sowing group of 20 kg h<sup>-1</sup>, i.e. in the lowest plants. Considering the infestation of plants with the insect *Ostrinia nubilalis*, the tendency of yield decrease with increasing plant height seems to be justified in this case. The analysis of the seed fraction in Table 1 clearly shows a significant difference in the seed size on the plot where 20 kg ha<sup>-1</sup> was sown and accompanied by herbicide application. At the same time, the smallest share of fine seeds with a fraction below 2.2 mm was recorded in this group. It is visible that the plots treated with the herbicide were characterized by a higher thousand seed weight and a higher yield.

The content of macronutrients was unequally differentiated in hemp seeds depending on the experimental objects. With regard to nitrogen (N), significantly the highest content was obtained in seeds in a sample taken

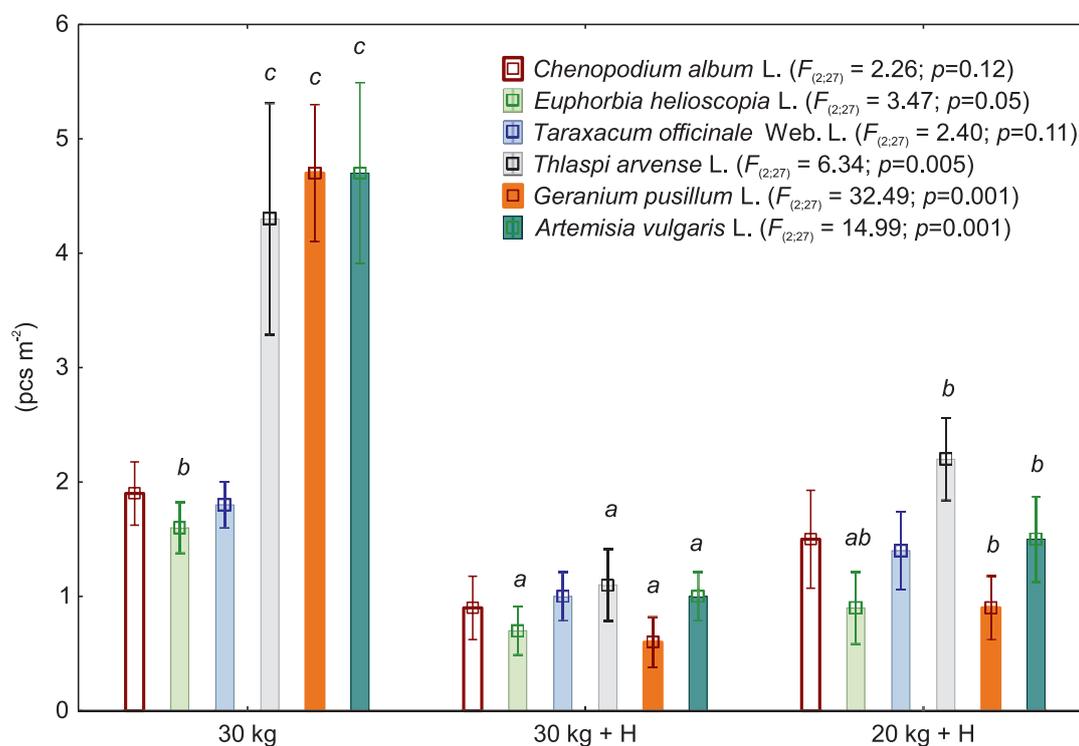


Fig. 1. Occurrence of weeds (pcs. m<sup>-2</sup>) in hemp cultivation post emergence

from a plot with a sowing density of 30 kg ha<sup>-1</sup> and with the use of herbicide, i.e. 37.2 g kg<sup>-1</sup>, and the lowest at a density of 30 kg ha<sup>-1</sup> without herbicide, i.e. 33.5 g kg<sup>-1</sup>. Significantly, the highest concentration of potassium (K) was found in samples of seeds from the object with a sowing density of 30 kg ha<sup>-1</sup> and without herbicide, i.e. 9.5 g kg<sup>-1</sup>, less at a density of 20 kg ha<sup>-1</sup> with herbicide, 8.9 g kg<sup>-1</sup>. In turn, in the case of phosphorus (P), no significant differences were found between the objects, only a tendency to a higher concentration of this element at the sowing density of 30 kg ha<sup>-1</sup> with the use of herbicide, i.e. 12.4 g kg<sup>-1</sup>, and lower at the same density without herbicide, i.e. 11.3 g kg<sup>-1</sup>. Significantly the most magnesium (Mg) was found in the sample taken from the experimental object with a sowing density of 30 kg ha<sup>-1</sup> (with and without herbicide application), on average 5.73 mg kg<sup>-1</sup>, the lowest at a density of 20 kg ha<sup>-1</sup> with herbicide, i.e. 5.04 mg kg<sup>-1</sup>. Similarly to magnesium, the content of zinc (Zn) was preserved, the highest concentration of which (22.6 mg kg<sup>-1</sup>) was confirmed in a sample taken from the experimental object with a sowing density of 30 kg ha<sup>-1</sup>, regardless of the herbicide, and the lowest concentration at a density of 20 kg ha<sup>-1</sup> after herbicide application (19.8 mg kg<sup>-1</sup>). The microelements iron (Fe) and manganese (Mn) showed similar differences depending on the sowing and protection against weeds in hemp. Indeed, the highest content of these elements was found in seeds in a sample taken from an experimental object with a sowing density of 20 kg ha<sup>-1</sup> after herbicide application (Fe – 38.8, Mn – 32.5 mg kg<sup>-1</sup>),

Table 1

Hemp biological characteristics depending on the seed density and herbicidal control

Characteristic	30 kg + H	20 kg + H	30 kg	<i>P</i>
Plant density	44.9	40.8	47.5	0.42
Plant height	163.8 <i>a</i>	155.7 <i>b</i>	163.3 <i>a</i>	0.008
Number of leaves	20.3 <i>b</i>	24.2 <i>a</i>	17.3 <i>c</i>	< 0.001
TSW	16.9	16.2	15.4	0.12
Seed fraction				
2.8 mm	63.5 <i>b</i>	78.7 <i>a</i>	60.7 <i>b</i>	0.05
2.5 mm	23.7 <i>a</i>	14.4 <i>b</i>	26.2 <i>a</i>	0.02
2.2 mm	7.4	4.4	8.1	0.12
Seed yield	196.0 <i>b</i>	267.3 <i>a</i>	64.0 <i>c</i>	0.001

and the lowest at a density of 30 kg ha<sup>-1</sup> without herbicide (Fe – 32.3, Mn – 28.8 mg kg<sup>-1</sup>). Contrary to iron and manganese, the highest concentration of copper (Cu) was detected in a sample taken from the experimental object with a seeding density of 30 kg ha<sup>-1</sup> without herbicide (4.62 mg kg<sup>-1</sup>), and the lowest at a density of 20 kg ha<sup>-1</sup> with herbicide (4.05 mg kg<sup>-1</sup>). In the case of calcium (Ca) and sodium (Na), no statistical differences were found in their concentration in hemp seeds, only a tendency to a higher content in a sample taken from an experimental object with a sowing density of 30 kg ha<sup>-1</sup> without herbicide (Figure 2).

Adjustment of the sowing density is very important, and this problem is described by Werf et al. (1995), who studied the effect of density on the development of hemp and the quality of the yield obtained. Hemp was grown at 10, 30, 90 and 270 plants m<sup>-2</sup>. With 270 plants m<sup>-2</sup>, the phenomenon of “self-thinning” has been observed in several studies. When using dense sowing, hemp plants competed with each other and some plants died during the growing season. In our research, after the ANOVA analysis, a difference in the height of the plants and the tendency to tillering was noticed. When the sowing density was increased by 10 kg ha<sup>-1</sup>, the plants were higher, which could have resulted from the competition for sunlight. At a sowing amount of 20 kg ha<sup>-1</sup>, the hemp plants were shorter but more branchy. The effect of density on the growth of hemp was studied in more detail by Hall et al. (2014). It was not only the sowing density was analyzed, but also other factors influencing the yield of plants were scrutinized, e.g. the content of minerals in the soil, temperature and precipitation during the growing season. Similarly to our research results, a relationship was observed between plant density and their height. The larger the sowing density was, the stronger the plants competed for light and the taller they were. The fact that hemp seed yield is also determined by sowing density is emphasized by Burczyk et al. (2009). When growing hemp for seeds or for food, the researchers observed the highest yields at sowing 30 kg ha<sup>-1</sup>.

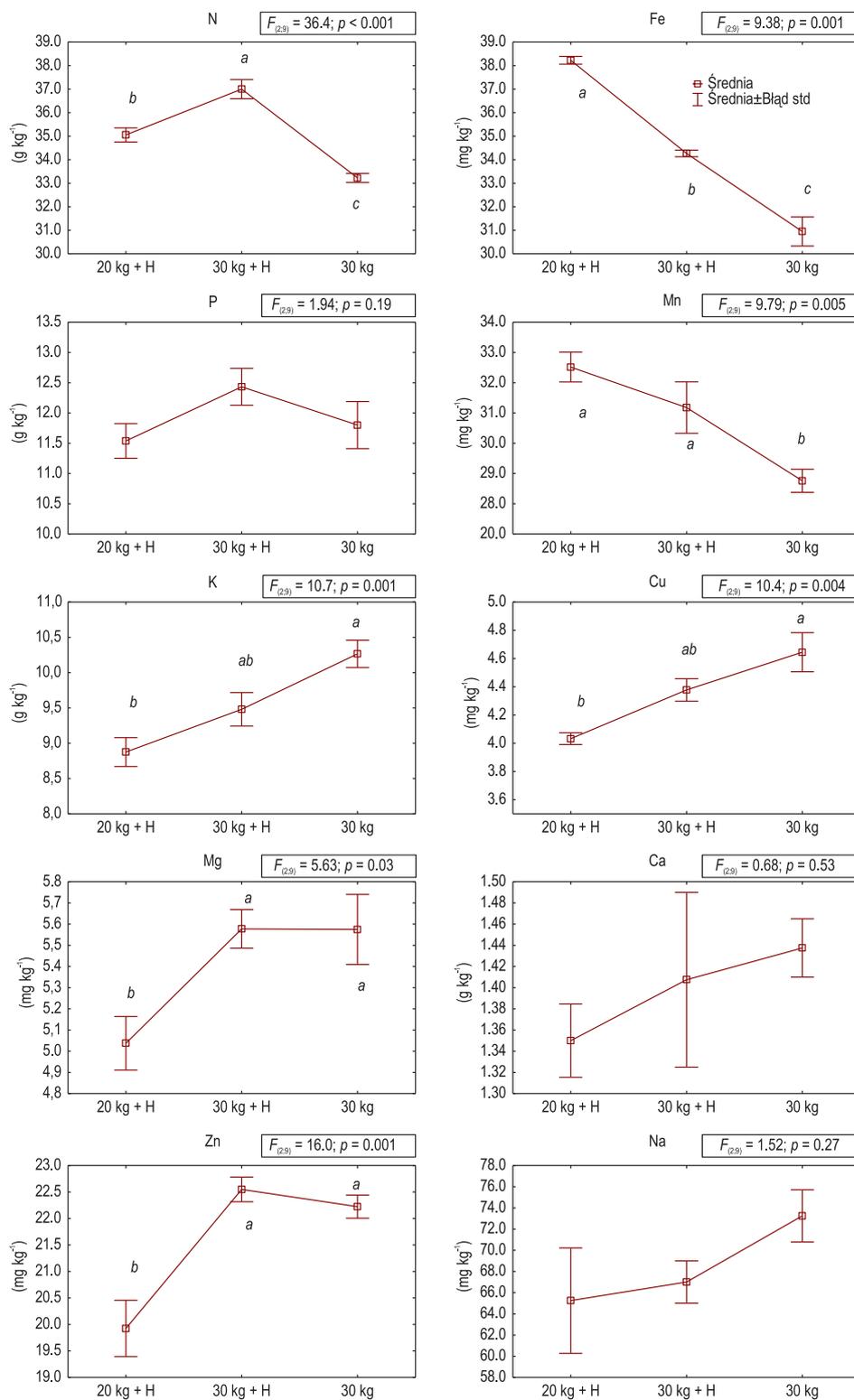


Fig. 2. The content of macro- and micronutrients in hemp seeds depending on the density and herbicidal control

Further increase in the sowing density resulted in a decrease in biomass and seed yield. The results of our research confirmed the observations of biomass capacity, but due to the infection of *Ostrinia nubilalis*, the tallest stems were infected and broke down together with the seed panicle before harvest or during threshing, which resulted in an opposite correlation of seed yield than in Burczyk's research. Turkish research (Yazici 2022) showed that high planting density (200 and 250 plants m<sup>-2</sup>) had a negative impact on several traits, i.e. plant height, technical stem length, stem diameter, fresh biomass yield, stem dry weight, fiber yield, seed yield and amount of oil. The increase in plant density at a certain rate increased the height of plants and the technical length of the stem. Nevertheless, plant height decreased with the increasing plant density. Due to the height of the plants and the technical length of the stem, the most appropriate planting density was 150 plants m<sup>-2</sup>. A higher seed yield was recorded for planting 100 and 150 plants m<sup>-2</sup> than for planting more than 200 and 250 plants m<sup>-2</sup>. Data in Figure 1 indicate that the number of 3 weed species decreased significantly after increasing the sowing density by 10 kg ha<sup>-1</sup>, while the number of the remaining 3 weeds did not change significantly. Weeds appeared on all experimental objects. Application of herbicide in the amount of 3 L ha<sup>-1</sup> significantly reduced weed infestation. There were definitely more weeds on the object where the herbicide was not used. It was necessary to use weed control with a power harrow. In the study of Hall (2014), a lower level of weed infestation was noted on plantations with a larger density. This difference results from the adopted density levels, as in the aforementioned studies the plant density was assumed to be from 100 to 400 plants m<sup>-2</sup>. The dominant weed (as in our research) was *Chenopodium album* L. The problem of hemp weeding differs not only because of the adopted agricultural technology, but also the location of the crops. Chemical weed control is most effective, but access to plant protection products is limited in many countries. There are still few herbicides approved for use in hemp cultivation on the market (Anderson 2018). In our research, Boxer herbicide was used, which was the only one officially registered as an agent approved for the protection of hemp plantations. In his research, Anderson emphasizes that the major impact on reducing the weed population is the preparation of the soil before sowing (thorough weeding) and control of the level of weed infestation during the growing season, using additional mechanical methods if necessary. In our research, as an additional element limiting the population of weeds, a rotary harrow was used, which effectively eliminated weeds. Recent studies (Ortmeier-Clarke et al. 2022) indicate that hemp is very sensitive to most seed and emergent herbicides tested at a single label dose. In their research on the active substances used so far in the cultivation of soybean and corn, they tried to identify those that would potentially be suitable for the protection of hemp in the future. Of the PRE herbicides tested, clopyralid and saflufenacil are potential candidates for cannabis registration and should be further evaluated in the field. Of the tested herbicides, POST clethodim and clopyralid are candidates for

potential registration, which warrants further evaluation in field conditions. Anderson (2018) also mentioned the use of crop rotation as a way to combat weeds and improve soil quality. In hemp cultivation, he mentioned winter wheat and soybean as particularly recommended plants for crop rotation. In the cultivation of winter wheat, it is easier to eliminate dicotyledonous weeds, and the cultivation of soybeans additionally helps to enrich the soil with nitrogen. In our research, it was necessary to apply additional nitrogen fertilization to improve the vitality of plants after emergence.

In this research, iron (Fe) and manganese (Mn) accumulated in the largest amounts after sowing 20 kg ha<sup>-1</sup> with herbicide, while potassium and copper – after sowing 30 kg ha<sup>-1</sup> without herbicide. This relationship is inversely proportional and mainly depends on the sowing density factor. According to the total elemental composition (Trukhachev et al. 2022), the results confirmed that hemp seeds are rich in macro- and microelements (in % by weight) including carbon (48 - 49%), oxygen (45 - 48%), silicon (0.1 - 0.4%), calcium (0.3 - 4.7%), potassium (0.1 - 1.0%), magnesium (0.1 - 0.7%), sodium (0.1 - 0.2%), sulfur (0.1 - 0.3%), phosphorus (0.1 - 0.2%), chlorine less than 0.1%.

Research results (Struk et al. 2022) indicate 20 inorganic elements in *Cannabis sativa* L. seeds, oil and pomace. The content of macro- and microelements in the raw materials of *Cannabis sativa* L. corresponds to the following order: Ca>Mg>Si>Fe>Al>Mn>Zn>Sr>B>Cu>Ba>Cr.

A similar order was also observed in our research. The exception in this study is the content of Mg. Struk et al. (2022) state that the largest amount of macro- and micronutrients is accumulated in hemp pomace, and the least – in hemp oil. Thus, hemp oil contains macro- and microelements and can be used as their source in human nutrition. Hemp is one of the plants that easily extract metals such as cadmium. Although above a certain K value in the soil, hemp will more easily transfer K cations instead of Ca. An increase in the K content in the seeds determines an increase in the Mg content so that the K:Mg ratio remains within certain limits. Fertilization does not significantly change the content of metals such as Fe, Mn, Zn and Cd.

## CONCLUSIONS

1. Seeding density significantly influenced weed infestation, with higher densities and herbicide application reducing weed populations effectively.
2. Plant characteristics, such as height and number of leaves, varied significantly among treatments, with higher seeding density resulting in taller plants and reduced leaf numbers.
3. The predominant seed fraction at 2.5 mm was observed in higher seeding density with herbicide treatment, indicating potential benefits for seed quality.
4. Nutrient content in hemp seeds showed variations in nitrogen, potas-

sium, phosphorus, and magnesium levels based on the experimental treatments.

5. The combination of herbicidal control and seeding density of 20 kg ha<sup>-1</sup> led to higher seed yield, suggesting practical benefits for hemp seed production.

6. The research highlights the importance of optimizing seeding density and using appropriate herbicidal control to achieve successful hemp seed cultivation.

## REFERENCES

- Amaducci S., Zatta A., Raffanini M., Venturi G. 2008. *Characterisation of hemp (Cannabis sativa L.) roots under different growing conditions*. Plant Soil, 313: 227-235. <https://doi.org/10.1007/s11104-008-9695-0>
- Anderson R.D. 2018. *Effects of Nitrogen Fertilizer Rate, Timing, and Herbicide Use on Industrial Hemp (Cannabis sativa)*. Masters Theses & Specialist Projects.
- Baraniecki P., Grabowska L., Kołodziej J., Kubacki A. 2013. *Industrial Hemp Cultivation and Processing Technology*. Ed. Cierpucha W., Instytut Włókien Naturalnych i Roślin Zielarskich.
- Burczyk, H., Grabowska L., Strybe, M., Róžańska, W. 2009. *Effect of sowing density and date of harvest on yields of industrial hemp*. J Natur Fibers, 6: 204-218.
- Commission Regulation (EU) 2022/1393 of amending Regulation (EC) No. 1881/2006 with regard to the maximum levels of delta-9-tetrahydrocannabinol ( $\Delta^9$ -THC) in hemp seeds and products derived therefrom. Published on August 11, 2022.
- Dzierżanowski T. 2018. *Cannabinoids – the possible use in palliative medicine*. Palliative Med, 10(1): 1-11. <https://doi.org/10.5114/pm.2018.77198>
- Grabowska L., Kołodziej J., Burczyk H. 2007. *Using of hemp as an energy plant*. Probl Inż Rol, 15(2): 19-26.
- Hall J., Bhattarai S.P., Midmore D.J. 2014. *Effect of industrial hemp (Cannabis sativa L.) planting density on weed suppression, crop growth, physiological responses, and fibre yield in the subtropics*. Renew Biores, 2(1): 1-7.
- Horanin A., Bryndal I. 2017. *Cannabis – active substances, medicinal properties and application*. Wyd Uniw Ekonom we Wrocławiu. (in Polish)
- Jagmin J. 1949. *Cultivation of flax and cannabis*. Państw Inst Wyd Rol. (in Polish)
- Lewis K., Tzilivakis J., Warner D., Green A. 2016. *An international database for pesticide risk assessments and management*. Human Ecol Risk Asses Int J, 22: 1-15. <https://doi.org/10.1080/10807039.2015.1133242>
- Mańkowski, J., Kołodziej, J., Kubacki, A., Baraniecki, P., Pniewska, I., Pudełko, K. (2014). *Cultivation of fibre cannabis accelerating the reclamation of post-mining areas after a lignite opencast mine* (in Polish). CHEMIK, 68(11): 983-988.
- Miščenko C.B., Lajko I.M. 2018. *Accumulation of cannabidiol during the ontogenesis of industrial hemp*. Plant Varieties Stud Protect, 14(4): 90-399. (in Russian) <https://doi.org/10.21498/2518-1017.14.4.2018.151902>
- Ortmeier-Clarke H., Oliviera M., Anderson N., Colney S., Werle R. 2022. *Dose response screening of industrial hemp to herbicides commonly used in corn and soybean*. Weed Technol, 36: 1-26. <https://doi.org/10.1017/wet.2021.105>
- Osanyinlusi R., Beauty O. 2023. *Assessment of chemical composition of hemp (Cannabis sativa) seed flour*. Int J Phytol Res, 3: 10-13. <https://www.researchgate.net/publication/368788869>

- Pellati F., Borgnoretta V., Brighenti V., Biagi M., Benvenuti S., Corsi L. 2018. *Cannabis sativa L. and nonpsychoactive cannabinoids: Their chemistry and role against oxidative stress, Inflammation, and cancer*. BioMed Res Int 2018, 16-21. <https://doi.org/10.1155/2018/1691428>
- Podbielkowski Z. 1992. *Useful plants*. Wyd Szkolne i Pedagogiczne.
- Robak J., Rogowska M., Anyszka Z. 2012. *Integrated protection of vegetables in Poland*. Progress Plant Protect, 52(4). <http://yadda.icm.edu.pl/yadda/element/bwmeta1.element/agro-00ec829e-6fa9-4f64-b00f-f69328d573cc>
- Ronkiewicz M. 2018. *Industrial Hemp Cultivation*. I. WMODR, Olsztyn.
- Silska G. 2017. *Cannabis (Cannabis L.) as a source of cannabinoids used in therapy*. Post. Fito-terapii, (4): 286-289. (in Polish) <https://doi.org/10.25121/PF.2017.18.4.286>
- Struk O., Grytsyk A., Mikitin M., Obodianskyi M., Stasiv T., Svirskaya S. 2022. *Research of biologically active substances of hemp seeds, hemp seed oil and hemp pomace*. ScienceRise: Pharmaceut Sci, 46-54. <https://doi.org/10.15587/2519-4852.2022.241249>
- Tanski M., Idziak R. 2010. *Application of prosulfocarb for weed control in winter wheat*. Progress Plant Protect, 50(1): 321-325.
- Trukhachev V., Dmitrevskaya I., Belopukhov S., Zharkikh O. 2022. *Quality control of industrial hemp seed products, varietal responsiveness of hemp seeds to bioregulator action*. Caspian J Environ Sci, 921-928. <https://doi.org/10.22124/CJES.2021.5267>
- Truta E., Surdu S., Rosu S., Asaftei M. 2009. *Hemp – biochemical diversity and multiple uses*. Analele Stiintifice ale Universitatii Al. I Cuza din Iasi. Genetica si Biologie Moleculara, X, 1-8.
- Werf H.M.G., van der Geel W.C.A., van and Wijnhuizen M. 1995. *Agronomic research on hemp (Cannabis sativa L.) in the Netherlands, 1987-1993*. J Int Hemp Assoc. [https://scholar.google.com/scholar\\_lookup?title=Agronomic+research+on+hemp+%28Cannabis+sativa+L.%29+in+The+Netherlands%2C+1987-1993.&author=Werf%2C+H.M.G.+van+der&publication\\_year=1995](https://scholar.google.com/scholar_lookup?title=Agronomic+research+on+hemp+%28Cannabis+sativa+L.%29+in+The+Netherlands%2C+1987-1993.&author=Werf%2C+H.M.G.+van+der&publication_year=1995)
- Wójtowicz M., Strażyński P., Mrówczyński M., Nijak K., Kierzek R., Wielgusz K., Baraniecki P., Kaniewski R., Korbas M., Danielewicz J., Obst A, Pasternak M., Matysiak K., Węgorzek P., Zamojska J., Dworzańska D. 2018. *Integrated cannabis protection methodology for advisors*. Instytut Ochrony Roślin – Państwowy Instytut Badawczy.
- Yazici L. 2022. *Optimizing plant density for fiber and seed production in industrial hemp (Cannabis sativa L.)*. J King Saud Univ – Science, 35: 1-6. <https://doi.org/10.1016/j.jksus.2022.102419>
- Zadrozniak B., Radwańska K., Baranowska A., Mystkowska I. 2017. *Possibility of industrial hemp cultivation in areas of high nature value*. Econom Regional Stud, 10: 114-127. <https://doi.org/10.2478/ers-2017-0009>

Article

# Comparative Characterization of Hemp Seed Cakes from Dehulled and Hulled *Cannabis sativa* L. var. *oleifera* cv. ‘Henola’: Nutritional, Functional, and Storage Stability Insights

Krystian Ambroziak \* and Anna Wenda-Piesik \* 

Department of Agronomics and Food Processing, Faculty of Agriculture and Biotechnology, Bydgoszcz University of Science and Technology, Al. Kaliskiego 7, 85-796 Bydgoszcz, Poland

\* Correspondence: krystian.ambroziak@pbs.edu.pl (K.A.); anna.wenda-piesik@pbs.edu.pl (A.W.-P.)

**Abstract:** This study investigated the nutritional composition, antinutritional factors, oxidative stability, microbiological safety, and sensory characteristics of hempseed cake (HC) derived from *Cannabis sativa* L. cv. ‘Henola’. The effects of dehulling and storage (1, 3, and 6 months) on dehulled (DHC) and hulled (HHC) hemp cake were systematically assessed. DHC exhibited significantly higher crude protein (up to 42.2%) and residual oil content (up to 37.5%), while HHC was richer in dietary fiber (up to 41.3%) and total carbohydrates (up to 48.2%). Despite comparable PUFA contents (63–72%) and favorable n-6/n-3 ratios (~3.1:1), DHC showed greater energy concentration and reduced levels of indigestible carbohydrates and phytates. Oxidative stability tests revealed increased acid and peroxide values in both HHC and DHC after six months, indicating quality deterioration (Totox index > 15). Microbiological analyses confirmed hygienic safety across all samples, with slightly higher microbial counts in HHC linked to hull-associated contamination. Sensory evaluations revealed stable color, odor, and texture during storage, with DHC rated more aromatic. These findings confirm that processing conditions—particularly dehulling—strongly affect the functional and nutritional profile of hempseed by-products. DHC emerges as a promising, shelf-stable, protein-rich ingredient for functional food and feed applications.

**Keywords:** hempseed cake shelf life; dehulling; cold pressing; protein content; dietary fiber; antinutritional compounds; oxidative stability; microbiological quality; sensory evaluation



Academic Editors: Rocío Casquete Palencia, María José Benito and Nikolaos Kopsahelis

Received: 18 March 2025

Revised: 26 April 2025

Accepted: 29 April 2025

Published: 1 May 2025

**Citation:** Ambroziak, K.; Wenda-Piesik, A. Comparative Characterization of Hemp Seed Cakes from Dehulled and Hulled *Cannabis sativa* L. var. *oleifera* cv. ‘Henola’: Nutritional, Functional, and Storage Stability Insights. *Foods* **2025**, *14*, 1605. <https://doi.org/10.3390/foods14091605>

**Copyright:** © 2025 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/>).

## 1. Introduction

Hemp (*Cannabis sativa* L.), a member of the Cannabaceae family, originated in Central Asia and southeastern Europe [1]. The species is divided into two main subspecies—*sativa* and *indica*—and possibly a third taxon, *C. ruderalis* [2]. Historically, hempseed oil was used for lamps, soap, varnish, paint, and as a feed supplement [3–6]. Today, hemp is recognized as an industrial crop with significant nutritional potential [7]. Rich in protein, essential amino acids, fiber, vitamin E, and minerals, hemp seeds enhance both human diets and animal feeds [8–10]. However, they are relatively low in lysine and, to a lesser extent, leucine and tryptophan [11]. Protein digestibility improves with dehulling, reaching up to 97.5% in peeled seeds compared to 85% in whole seeds [5,11–14]. The primary proteins, edestin and albumin, are easily digestible and nutritionally comparable to those in other high-quality plant sources [15–17]. Hemp peptides also show antioxidant and anti-inflammatory properties [18–21].

The oil content in hemp seeds exceeds 30%, with high levels of linoleic (omega-6) and alpha-linolenic (omega-3) acids, typically in a favorable 3:1 ratio [22–24]. This lipid profile, with low saturated fats and a high PUFA content, is beneficial for cardiovascular health [20,25–27]. After cold pressing, partially defatted hemp flour retains 13–15% oil, depending on the cultivar [28].

In response to the growing global demand for plant-based protein and fiber sources, hemp-derived ingredients are increasingly explored for food and feed applications. The present study focuses on a Polish cultivar ‘Henola’, known for its high yield and oil content [29]. It aims to (i) compare the nutritional and functional value of hemp cakes from hulled and dehulled seeds, (ii) assess the effect of processing on antinutritional factors, and (iii) evaluate the shelf life and sensory stability of these by-products. The hypothesis is that hemp cakes can offer nutritionally valuable, microbiologically safe ingredients for use over extended storage periods. To our knowledge, this is the first comprehensive study to evaluate the long-term storage stability and nutritional dynamics of dehulled and hulled hemp cakes from the ‘Henola’ variety under real storage conditions.

## 2. Materials and Methods

### 2.1. Characteristics of ‘Henola’ Hemp

Non-narcotic, monoecious oil variety ‘Henola’, bred by the Institute of Fibrous and Medicinal Plants of the Polish Research Institute, number R2908, was chosen for this study. This variety is recommended for the cultivation of hemp for seeds. It is characterized by producing at least twice the yield compared to other varieties available on the market (0.8–2.0 tons per hectare for industrial plantations (Table 1). ‘Henola’ characteristics include low height < 2 m and a 3-week shorter vegetation period as compared to typical fiber varieties [29].

**Table 1.** Functional features of the ‘Henola’ variety.

Trait	Value
Vegetation	100 days
Oil content	28–32%
Crude protein	20–22%
Crude fiber	30–32%
Yield	0.8–2.0 t ha <sup>-1</sup>
TSW	16–18 g

<https://programkonopny.pl/program-konopny---henola.html>, available date 14 November 2024.

### 2.2. Agrotechnics

In the 2023 season, hemp sowing was completed by utilizing a traditional grain seeder, row spacing of 12 cm, and sowing depth of 3 cm; seeds were sown in the amount of 60 kg ha<sup>-1</sup>. No herbicides or fertilization were used, due to the conversion of experimental plantations to an ecological system. Hemp seeds were harvested with a combine harvester at the stage of full seed maturity. Prior to harvest, seed moisture amounted to 26%.

### 2.3. Laboratory Tests on Hemp Seeds

The size of hemp seeds was determined by dividing them into fractions using the sieve method, of >2.8 mm, 2.5–2.8 mm, and 2.2–2.5 mm, which determined their usage either for hulling or direct pressing without hulling. The buttock with the smallest fraction (below 2.2 mm) was not subjected to further testing. Hemp seeds were tested for oil, total protein, and fiber using near-infrared reflectance spectroscopy (NIRs) (Foss Infratec NOVA, Hillerød, Denmark).

#### 2.4. Method of Hulling and Processing Hemp Seeds

Hemp nuts designated for seed coat removal underwent initial cleaning utilizing an industrial sieve and fan windmill (Sitono CZ Maior, Staroszkki, Poland). The dehulling process took place on a test stand created exclusively for this purpose and consisted of 3 stages. The first stage involved a Hemp Seed Dehulling Machine GG-1 (Longer Machinery, Zhengzhou, Henan, China), which effectively split the seed husk and partially removed it using an integrated aspiration system. In the second stage, cracked seeds were redirected to a mechanical mixer (Grutech GTH-MBM SD, Janowo, Poland) to separate the seed husks from the kernels using a spiral ribbon. The resulting mixture was then transferred to a machine (Pfeuffer GmbH MLN, Kitzingen, Germany) with a built-in air aspiration system used for suctioning out the husk and, therefore, to complete the final stage of the process (separation of the husk from the seminal nuclei). Dehulled hemp seeds were used to produce hemp cake. A snail press (Miramar Sp. Z o.o. M-22, Nowa Wieś Poland) with adaptable components for seeds with different degrees of hardness and variable compression ratios, shaft speed ranges, and pressing process temperatures was used for this purpose.

The research involved two products: dehulled hemp cake (DHC) and hulled hemp cake (HHC), both produced through cold pressing of oil at 55 °C. In subsequent research stages, DHC was subjected to two additional production variants: double cold pressing of oil at 55 °C and single hot pressing at 90 °C. These additional DHC variants were not tested for shelf life but were used to compare the oil content in the cake and tested for the presence of antinutritional substances.

The extracted product obtained through pressing was hemp cake in the form of pellets. Prior to laboratory testing, the samples were ground and placed in dark, light-restricted packaging with double zipper closure.

#### 2.5. Analytical Methods for Testing Hemp Cakes

##### 2.5.1. NIRs and Laboratory Methods

Hemp cakes obtained in the pressing process were ground (Foss Knifetec KN 295 mill, Hillerød, Denmark), designed for fat samples, and cooled with water. The NIRs method was initially selected on Foss analyzers (DA1650, Hillerød, Denmark), and then on Bruker MPA II (Bruker Optics GmbH & Co, Ettlingen, Germany), according to PN EN ISO 12099:2017. The content of crude protein (CP), according to PN-EN ISO2043:2007, crude fiber (CF), according to PN-EN ISO 6865, and oil content (OC), according to PN-EN ISO 734-1:2007, were investigated. The same samples were studied using wet reference methods, with the water and ash content (%) measured by weight methods. Protein was determined using the Kjeldahl method on a Foss distiller (Kjeltec 9, Hillerød, Denmark), in accordance with AN 5511, v.3. Fiber was determined using an enzymatic-gravimetric analysis (Foss, Fibertec™ 8000, Hillerød, Denmark) in accordance with AN 3440, v. 2. Total fat extraction was carried out using a Foss extraction system (Soxtec™ 8000, Hillerød, Denmark) and a hydrolysis system (Hydrotec™ 8000, Hillerød Denmark). Fat extraction was carried out according to Randall's modification using the Soxhlet method. Analyses were performed in accordance with AN 320. Fatty acid (FA) profiles were assessed with GC using official ISO protocols: SFA, MUFA, PUFA, n-3 (ALA, EPA, DHA, ETE, DPA), n-6 (LA, GLA, ARA, DGLA), (C18:2w6) cis-linoleic acid (LA), (C18:3w3) alpha-linolenic acid (ALA), and (cis-9, cis-12, cis-15 alpha-linolenic acid), according to PN-EN ISO 12966-1:2015-01 + AC:2015-06 + PN-EN ISO 12966-2:2017-05 in g100 g<sup>-1</sup> oil.

Cake samples tested by NIRs and wet reference methods were further analyzed for their energy value (EV) in kcal100 g<sup>-1</sup>, according to Regulation (EU) No. 1169/2011 (OJ L 304, 22 November 2011, as amended). The total carbohydrate (TOT Carb in %) and

digestive carbohydrates (Dig Carb in %) were calculated, and total sugars (TOT Sugar %) were measured according to Regulation (EC) No. 152/2009 of 27 January 2009 (OJ EU L 54/1 of 26 February 2009). The dietary fiber (DF), non-starch polysaccharide (NSP), Klason lignin (KL), uronic acid (UA), raffinose family oligosaccharides (RFOs), phytic acid (PA), and total phenolic content (TPC) were laboratory tested.

#### 2.5.2. Dietary Fiber

DF was determined using the enzymatic-gravimetric (AOAC 985.29) method as the sum of NSP, KL, UA, and oligosaccharides.

#### 2.5.3. Non-Starch Polysaccharides

The content of NSP was determined by gas chromatography according to Englyst and Cumming [30], the AACC standard procedure 32-25, and AOAC 994.13 [31]. The T-NSP is the sum of sugars: arabinose, xylose, mannose, galactose, and glucose (Approved Methods of the AACC, 2003; AOAC, 1990) [32]. This analysis allows the separation of NSP into two fractions: soluble and insoluble, and the determination of the polysaccharide composition in both fractions. The content of arabinoxylans in each fraction is calculated as the sum of arabinose and xylose. In the first stage, enzymatic hydrolysis of starch is carried out using alpha-amylase and amyloglucosidase enzymes, and then the samples are centrifuged and separated using 96% ethyl alcohol into soluble (supernatant) and insoluble (pellet) fractions. Each fraction is hydrolyzed using 1 M sulfuric acid (100 °C, 2 h) to monosaccharides and then converted to volatile alditol acetates. The samples prepared in this way are separated on a Clarus 500 gas chromatograph (PerkinElmer, Shelton, Connecticut, USA) equipped with an Rtx-225 quartz capillary column (0.53 × 30 m), autosampler, split injector, and flame ionization detector (FID). Carrier gas for analyses: helium. The separation is carried out at 225 °C, with the injector and detector temperature at 275 °C.

#### 2.5.4. Klason Lignin

The KL content was determined by a gravimetric method (AACC 32-25) [33]. The ground sample was incubated with 72% sulfuric acid at 30 °C for 60 min, and then deionized water was added and incubated at 100 °C for 180 min. After cooling the contents of the tubes, the insoluble fraction was recovered by filtration, washed with water, 80% ethyl alcohol, and acetone, and then dried (105 °C, 16 h) and ashed (550 °C, 5 h). The lignin content was calculated from the weight loss after ashing of the dried material [33].

#### 2.5.5. Uronic Acid

The UA content was determined by the colorimetric method according to Scott [34] and Englyst et al. [35]. Galacturonic acid was used as a standard. To the hydrolysates from the acid hydrolysis of NSP from the soluble and insoluble fractions, 3% boric acid solution and 2% sodium chloride were added. Then, concentrated sulfuric acid was added and heated at 70 °C for 40 min. After cooling, a solution of 3,5-dimethylphenol in acetic acid was added and mixed, and the absorbance was measured at 400 and 450 nm.

#### 2.5.6. Raffinose Family Oligosaccharides

The content of RFO was determined by gas chromatography according to Lahuta [36]. Oligosaccharides were extracted with 50% ethyl alcohol and then converted into volatile derivatives using a mixture of trimethylimidazole and pyridine (1:1, *v/v*). The derivatives were separated on an Rtx-1 capillary quartz column (0.25 mm × 15 m) using a Clarus 600 gas chromatograph (Perkin Elmer). Oligosaccharides were calculated as the sum of raffinose, stachyose, and verbascose.

### 2.5.7. Phytic Acid

Phytic acid (PA) was determined by the colorimetric method according to Haug and Lantzsch [37]. The sample with 0.2 N HCl added was extracted for 3 h at room temperature and then centrifuged. Ammonium and iron sulfate were added to the obtained filtrate and boiled for 30 min. After this time, the samples were cooled and centrifuged for 30 min at 6 °C. Then, bipyridine solution was added to the obtained supernatant and, after 10 min, the absorbance was measured at a wavelength of 519 nm.

### 2.5.8. Total Phenolic Content

The total phenolic content (TPC) was assessed using the colorimetric Folin–Ciocalteu method as described by Shahidi and Naczk [38]. Samples were extracted twice with 80% methanol at room temperature for 2 h. After centrifugation, the combined supernatants were reacted with Folin–Ciocalteu reagent, followed by sodium carbonate addition to establish alkaline conditions. Absorbance was measured at 750 nm after 100 min of incubation in the dark. Gallic acid served as the standard, and the results were expressed as mg gallic acid equivalents (GAEs) per gram of dry mass. Analyses were conducted in duplicate, and means were accepted when replicate differences were below 4%.

The results based on NIRs technology were used for device calibration, aiming to save time and costs in future laboratory evaluations for hemp cakes. Spectra collected in the continuous production process were invaluable in validating the developed research method.

### 2.5.9. Storage Tests

The storage trials consisted of testing the nutritional value and organoleptic properties of the sample at three different times, i.e., after 1, 3, and 6 months from production and packaging. The acid value (AV) in mg KOH g<sup>-1</sup> (PB-PAZ/FS-24 v. 01, 22.02.2021 r.), peroxide value (PV) in meq O<sub>2</sub> kg<sup>-1</sup> (PN-EN ISO 27107:2012), and anisidine value (ANV) (PN-EN ISO 6885:2016-04) were measured, while the Totox index was calculated by the formula 2PV + ANV, for both oil and cakes in identical temperature and time conditions. The microbiological status of cakes was measured by counting (in cfu g<sup>-1</sup>) mesophilic aerobic microorganisms (MAMs) at 30 °C, yeasts and molds (Y&M), and coagulase-positive staphylococci (CPS) of *Staphylococcus aureus*, *Enterobacteriaceae*, and *Salmonella* spp., according to the following methods: PN-EN ISO 4833-1:2013-12, PN-ISO 4832:2007, PN-ISO 7954:1999 (W), PN-EN ISO 21528-02:2017-08, PN-EN ISO 6888-2:2022-03, and PN-EN ISO 6579-1:2017-04 + A1:2020-09.

The same three-person panel conducted a sensory analysis of the hemp product's characteristics. General appearance and consistency (PB-PAZ/FS-33 v. 01, 4 March 2021), color and smell (PN-R-74013:2012) were assessed and scored on nominal scales. The descriptive data for each feature were calculated using a sign test to verify the hypothesis of no variation in color, appearance, and odor over the period of 6 months. Data from the test protocols supported the patent application.

### 2.6. Statistics

Nutrient content data, with threefold replications for each research object (HHC/DHC) in each month, were analyzed for a normal distribution using the Shapiro–Wilk *W* test. The normalized data were subjected to calculations using the *t*-Student test. The results are presented as mean ± standard error (*s<sub>e</sub>*). The contents of nutrients and antinutrients were subjected to one-way ANOVA in order to verify the null hypothesis assuming no differences between the experimental oil extraction process. For this purpose, the ANOVA test, *F*, was used at the significance level of *p* = 0.05. In a situation where the significance of

the extraction process effect was proven, a comparison of the object means was performed using the Tukey *HSD* test, for  $p = 0.05$ . The non-parametric sign test was calculated to verify the hypothesis regarding the changes in organoleptic features on nominal scales (smell, color, consistency). The software Statistica 13.0 was used for the calculations.

### 3. Results and Discussion

#### 3.1. Nutrients and Other Dietary Components from Hemp Cake

##### 3.1.1. Key Nutrients

Parametric values of DF, TOT Carb, and Dig Carb as well as EV were stable from 1 to 6 months after extraction but varied significantly depending on the technology used to obtain oil (Table 2). Only the water content remained at the same level and averaged 9.4% of the mass. The present study demonstrates that both dehulling and pressing conditions significantly influence the nutritional profile and energy value of hemp seed cake (HC). Dehulled hemp cake (DHC) exhibited a lower DF content (6.90–8.03%) compared to hulled hemp cake (HHC) (37.2–41.26%), yet was characterized by higher EV (512–540 kcal/100 g), likely due to increased lipid and available carbohydrate contents. These findings emphasize the functional role of seed coat removal in modulating the macronutrient balance of hemp-based products.

**Table 2.** Nutritional components values (mean  $\pm$   $s_e$ ) of hemp cake after cold extraction of the oil from the seeds, cv. ‘Henola’.

HC	Length of Trial (Month)	DF (%)	TOT Carb (%)	Dig Carb (%)	EV (kcal 100 g <sup>-1</sup> )	Water (%)
HHC	1	37.20 $\pm$ 1.17 <sup>A 1</sup>	47.30 $\pm$ 1.10 <sup>A</sup>	6.30 $\pm$ 0.34 <sup>A</sup>	287.00 $\pm$ 1.65 <sup>B</sup>	10.50 $\pm$ 0.09
	3	41.26 $\pm$ 0.42 <sup>A</sup>	48.15 $\pm$ 1.25 <sup>A</sup>	6.89 $\pm$ 0.91 <sup>A</sup>	292.50 $\pm$ 2.83 <sup>B</sup>	9.74 $\pm$ 0.06
	6	37.65 $\pm$ 0.24 <sup>A</sup>	43.46 $\pm$ 0.33 <sup>A</sup>	6.13 $\pm$ 0.86 <sup>A</sup>	305.50 $\pm$ 3.33 <sup>B</sup>	8.90 $\pm$ 0.14
DHC	1	8.03 $\pm$ 0.79 <sup>B</sup>	9.46 $\pm$ 0.17 <sup>B</sup>	1.88 $\pm$ 0.75 <sup>B</sup>	525.00 $\pm$ 3.30 <sup>A</sup>	9.66 $\pm$ 0.16
	3	7.20 $\pm$ 0.59 <sup>B</sup>	9.50 $\pm$ 0.10 <sup>B</sup>	2.80 $\pm$ 0.43 <sup>B</sup>	540.00 $\pm$ 6.60 <sup>A</sup>	9.50 $\pm$ 0.31
	6	6.90 $\pm$ 0.10 <sup>B</sup>	9.70 $\pm$ 0.02 <sup>B</sup>	2.20 $\pm$ 0.10 <sup>B</sup>	512.00 $\pm$ 4.71 <sup>A</sup>	9.20 $\pm$ 0.05

<sup>1</sup> Capital letters indicate significant differences between HHC and DHC at the same length of trial according to the *t*-Student test, at  $p = 0.05$ .

A comparable trend was not observed in the study by Mendoza-Pérez et al. [28], who analyzed defatted cake obtained from whole (hulled) seeds of three industrial hemp cultivars from Spain. Their results showed fiber contents between 34.5% and 38.8%, similar to our HHC values, reinforcing the notion that the seed coat is the principal fiber-contributing fraction. However, since no dehulling was applied in their protocol, differences due to seed coat removal could not be examined. Moreover, energy values were not directly reported, which limits direct comparison.

Carbohydrates in hemp seed by-products primarily consist of dietary fiber, both soluble and insoluble. The TOT Carb content in HHC ranged between 43.5% and 48.2%, whereas in DHC, it was only about 9.5%, indicating a more than four-fold difference. Similarly, Dig Carb was significantly higher in HHC (approx. 6.5%) than in DHC (approx. 2.3%) (Table 2). This suggests that the seed hull not only contains a substantial portion of indigestible polysaccharides but also contributes to the retention of other carbohydrate forms—likely associated with cell wall structures and residual starch.

These values are consistent with data reported by Leonard et al. [16], who stated that hemp by-products from hulled seeds typically contain 30–40% fiber, whereas dehulled seed products drop to 7–15%, which supports the validity of our findings. Moreover,

they reported TOT Carb values ranging from 10 to 30%, predominantly as fiber. High dietary fiber levels, especially in hulled variants, support digestive health and can be used to develop high-fiber food products. From a practical perspective, HHC appears more suitable for applications requiring a high fiber content (e.g., functional foods, animal feed), while DHC—with its lower fiber and higher energy density—may serve better in high-calorie diets or products requiring enhanced bioavailability.

### 3.1.2. Fatty Acid Profile

In terms of fatty acid composition, our results showed that the SFA content was slightly higher in HHC (10.73–11.21%), while MUFA dominated in DHC (11.0–14.2%), particularly following cold pressing (Table 3). This pattern is consistent with Leonard et al. [16], who reported that the mechanical pressing process influences the extraction efficiency of different lipid fractions, with MUFAs being more abundant in pressed cake due to their lower volatility and binding affinity to the solid phase of the oilseed cake. However, our study further suggests that the pressing temperature (cold vs. hot) has a measurable impact on the residual oil content and, consequently, the lipid profile of the cake, an aspect that Leonard et al. only briefly acknowledged. The n-6:n-3 fatty acid ratio in our samples (3.1–3.3:1) aligns with the values recommended for human nutrition ( $\leq 4:1$ ), and closely matches results presented by Wang and Xiong [39] and Karabulut et al. [8], who emphasized the nutraceutical potential of hemp seed-based products due to their favorable PUFA composition. These ratios were consistent across DHC and HHC, indicating that seed dehulling and pressing do not significantly alter the essential fatty acid profile, but rather the total lipid yield [16].

**Table 3.** Content values (mean  $\pm$   $s_e$ ) of fatty acids in hemp cake after cold extraction of the oil from the seeds, cv. ‘Henola’.

HC	Length of Trial (Month)	SFA (%)	MUFA (%)	PUFA (%)	n-3 (%)	n-6 (%)
HHC	1	10.90 $\pm$ 0.01 <sup>A 1</sup>	10.13 $\pm$ 0.75 <sup>B</sup>	62.30 $\pm$ 2.13	15.00 $\pm$ 0.53	45.00 $\pm$ 1.74
	3	10.73 $\pm$ 0.59 <sup>A</sup>	13.03 $\pm$ 0.41 <sup>A</sup>	72.26 $\pm$ 1.84	17.17 $\pm$ 0.26	52.40 $\pm$ 1.16
	6	11.21 $\pm$ 0.65 <sup>A</sup>	10.92 $\pm$ 0.20 <sup>B</sup>	63.26 $\pm$ 2.51	14.95 $\pm$ 0.68	47.16 $\pm$ 1.61
DHC	1	7.46 $\pm$ 0.78 <sup>B</sup>	14.02 $\pm$ 0.07 <sup>A</sup>	71.48 $\pm$ 0.14	14.16 $\pm$ 0.12	54.72 $\pm$ 0.10
	3	8.80 $\pm$ 0.48 <sup>B</sup>	11.00 $\pm$ 0.47 <sup>B</sup>	67.01 $\pm$ 0.46	16.90 $\pm$ 0.14	50.00 $\pm$ 0.24
	6	8.70 $\pm$ 0.50 <sup>B</sup>	13.00 $\pm$ 0.24 <sup>A</sup>	65.05 $\pm$ 0.34	16.30 $\pm$ 0.02	49.00 $\pm$ 0.21

<sup>1</sup> Capital letters indicate significant differences between HHC and DHC at the same length of trial according to the *t*-Student test, at  $p = 0.05$ .

The fatty acid profile in ‘Henola’ HC is highly consistent with that reported by Mendoza-Pérez et al. [28] in ‘Henola’ oil (solvent and SSP extraction). Our study showed that PUFA in HC amounted to 63–72%, while in the Spanish study, PUFA in oil amounted to 72.4–73.2%. The slightly lower level in our HHC/DHC was likely due to residual oil levels. MUFA in HC reached 10.1–14.0%, and additionally DHC reached comparable MUFA levels to the results obtained in oil (14.0–14.6%). Similar in magnitude, the SFA contents for ‘Henola’ oil (10.0–10.2%) and ‘Henola’ HC (7.5–11.2%) were accompanied by a significantly lower SFA content in our DHC (7.5–8.8%).

The results confirm that cold-pressed hemp cake retains a favorable unsaturated fatty acid profile, closely resembling that of pressed oils. The PUFA content remains high in both cake and oil, highlighting the value of hemp cake as a functional by-product. The  $\omega$ -6/ $\omega$ -3 ratio is within the optimal nutritional range, supporting the cardiovascular benefits of hemp-derived lipids.

### 3.1.3. Other Food Components

Significantly higher contents of OC, CP, and sugars were attributed to DHC, which ranged between 33.1% and 37.5% for OC, 41.15% and 42.20% for CP, and 4.70% and 4.83% for sugars, respectively (Table 4). With HHC, these contents were higher on average by 27.0, 11.3, and 0.36% points. According to several studies, the residual OC in raw hemp seed oil cake ranges from 7% to 15%, depending on the pressing method and variety [5,7,40,41].

**Table 4.** Content values (mean  $\pm$   $s_e$ ) of the remaining food components from hemp cake following the cold extraction of oil from the seeds, cv. ‘Henola’.

HC	Length of Trial (Month)	OC (%)	CP (%)	Ash (%)	Sugar (%)	CF (%)
HHC	1	8.90 $\pm$ 0.10 <sup>B1</sup>	31.40 $\pm$ 0.71 <sup>B</sup>	5.60 $\pm$ 0.10	2.90 $\pm$ 0.03 <sup>B</sup>	32.40 $\pm$ 0.26 <sup>A</sup>
	3	7.48 $\pm$ 0.76 <sup>B</sup>	28.39 $\pm$ 0.36 <sup>B</sup>	6.09 $\pm$ 0.06	3.07 $\pm$ 0.02 <sup>B</sup>	31.35 $\pm$ 0.75 <sup>A</sup>
	6	9.47 $\pm$ 0.28 <sup>B</sup>	30.76 $\pm$ 0.29 <sup>B</sup>	6.42 $\pm$ 0.23	3.22 $\pm$ 0.06 <sup>B</sup>	32.75 $\pm$ 1.10 <sup>A</sup>
DHC	1	37.50 $\pm$ 0.19 <sup>A</sup>	41.15 $\pm$ 0.09 <sup>A</sup>	6.75 $\pm$ 0.01	4.83 $\pm$ 0.04 <sup>A</sup>	2.00 $\pm$ 0.09 <sup>B</sup>
	3	35.20 $\pm$ 0.49 <sup>A</sup>	41.40 $\pm$ 0.19 <sup>A</sup>	6.50 $\pm$ 0.05	4.80 $\pm$ 0.02 <sup>A</sup>	1.90 $\pm$ 0.01 <sup>B</sup>
	6	33.10 $\pm$ 0.38 <sup>A</sup>	42.20 $\pm$ 0.07 <sup>A</sup>	6.30 $\pm$ 0.02	4.70 $\pm$ 0.02 <sup>A</sup>	1.90 $\pm$ 0.02 <sup>B</sup>

<sup>1</sup> Capital letters indicate significant differences between HHC and DHC at the same length of trial according to the *t*-Student test, at  $p = 0.05$ .

Residual OC in HC is a key parameter influenced by the efficiency of mechanical pressing and the presence of hulls. In one of the earliest reports, Callaway [5] noted that cold-pressed hemp cake typically retains between 7% and 10% oil, depending on extraction precision. Later, House et al. [11] analyzed several commercially available hemp seed-derived products and found oil contents ranging from 8% to 12%, highlighting the effect of the pressing method and seed variety. Galasso et al. [41] reported slightly higher values (10–15%), particularly in cakes derived from cold pressing with a lower mechanical yield, emphasizing the limitations of this technique. These findings were further corroborated by Leonard et al. [40], who cited similar residual oil ranges across various raw hemp seed cake samples. Our results for HHC and DHC are in agreement with these previous studies, particularly in the case of HHC (7.5–9.5% OC), which falls within the commonly reported range for cold-pressed cakes. Additionally, these values are consistent with the findings from a recent study on the ‘Henola’ cultivar [28], where defatted cake produced by screw-press extraction retained approximately 10.7% residual oil. These findings confirm that cold pressing, even under optimized mechanical conditions, typically leaves a substantial fraction of oil in the cake matrix, contributing to its energy value and potential functional applications.

The CP and CF contents in our samples were strongly influenced by the presence or absence of the seed hull. In the HHC, the CP content ranged from 28.4% to 31.4%, while CF ranged from 31.3% to 32.8%. These values are in strong agreement with earlier reports [5,11,39], where raw or minimally processed hemp seed oil cake typically contained 25–35% CP and 27–33% CF. A recent study [28] also reported comparable protein (~31.5%) and fiber (~28–30%) levels in defatted cakes derived from cold pressing whole seeds of ‘Henola’. Our findings are further corroborated by more recent studies. Shen et al. [42] demonstrated that proteins extracted from dehulled industrial hemp seeds exhibited significantly higher protein purity (up to 93.3%) due to the removal of hull components, affirming the role of hull removal in increasing the protein concentration and nutritional quality of hemp seed products. Their work also emphasized that adjusting precipitation pH during protein extraction substantially impacts the yield and purity of hemp protein isolates, align-

ing with our observations regarding the benefits of seed dehulling and precise processing conditions. Additionally, Tufarelli et al. [43] reported positive effects of incorporating hemp seed cake (HSC) into poultry diets, highlighting improved fatty acid profiles and oxidative stability in meat, owing to the rich nutritional profile of hemp components. This study not only underscores the nutritional benefits of hemp seed cakes but also reinforces the economic and environmental viability of their use as functional ingredients in animal feed. Similarly, Papatzimos and Kasapidou [44] comprehensively reviewed the utilization of hemp components, confirming that hemp cake, rich in proteins and essential fatty acids, significantly contributes to improved nutritional quality in animal products. Their findings, emphasizing enhanced polyunsaturated fatty acid (PUFA) levels and improved sensory attributes in products from animals fed with hemp supplements, complement and support our results. Further supporting these conclusions, Kasula et al. [45] evaluated the nutritional and safety profiles of hemp seed cake, affirming its suitability as a safe, nutrient-rich ingredient for animal feeds, which can effectively replace traditional protein sources and significantly enhance animal health outcomes. Similarly, Dong et al. [46] highlighted the versatility and efficacy of hemp seed proteins in food applications, noting their excellent functional properties, such as emulsification, foaming, and water-binding capacity, which are crucial for both animal nutrition and human food industries. Together, these studies consistently indicate that hemp seed processing methods, particularly dehulling and defatting, substantially enhance protein purity and nutritional value, meaning hemp seed cake is a highly beneficial ingredient in animal nutrition and functional food applications.

### 3.2. Content of Nutrients and Antinutritional Substances

#### 3.2.1. Indigestible Carbohydrates and Phytates

Single and double cold pressing (55 °C) of DHC, as well as hot pressing (90 °C), significantly reduced the levels of total non-starch polysaccharides (T-NSPs) and phytic acid (UA) when compared to the single cold pressing of HHC (Table 5). Considering the additional energy input required for heating or double pressing, the single cold pressing method appears to be both effective and more energy-efficient, while still reducing the antinutritional load to a safe level. Among all tested variants, hot-pressed DHC showed the highest protein content (59.72%) and ash (9.46%) but the lowest oil content (20.90%). In contrast, cold-pressed HHC contained the highest concentrations of antinutritional substances, with T-NSP exceeding 27% and UA reaching 2.62% of dry matter. This supports the role of the seed hull as a major reservoir of indigestible carbohydrates and phytates.

**Table 5.** Content values (mean  $\pm$   $s_e$ ) of nutritional and antinutritional substances in dry matter of hemp cake, cv. ‘Henola’, depending on the oil extraction process.

Oil Extraction Process of HC	Protein	Oil	Content (%) D.M. Ash	T-NSP	UA
1 cold pressing (55 °C) of DHC	43.33 $\pm$ 0.06 <sup>b 1</sup>	43.93 $\pm$ 0.00 <sup>c</sup>	6.94 $\pm$ 0.02 <sup>a</sup>	3.91 $\pm$ 0.03 <sup>a</sup>	1.19 $\pm$ 0.01 <sup>a</sup>
2 cold pressing (55 °C) of DHC	42.35 $\pm$ 0.04 <sup>b</sup>	42.37 $\pm$ 0.00 <sup>c</sup>	6.90 $\pm$ 0.01 <sup>a</sup>	2.70 $\pm$ 0.05 <sup>a</sup>	0.81 $\pm$ 0.03 <sup>a</sup>
1 hot pressing (90 °C) of DHC	59.72 $\pm$ 0.23 <sup>c</sup>	20.90 $\pm$ 0.02 <sup>b</sup>	9.46 $\pm$ 0.03 <sup>b</sup>	3.22 $\pm$ 0.04 <sup>a</sup>	1.10 $\pm$ 0.02 <sup>a</sup>
1 cold pressing (55 °C) of HHC	29.95 $\pm$ 0.36 <sup>a</sup>	15.94 $\pm$ 0.02 <sup>a</sup>	6.75 $\pm$ 0.03 <sup>a</sup>	27.94 $\pm$ 0.48 <sup>c</sup>	2.62 $\pm$ 0.00 <sup>b</sup>

<sup>1</sup> Small letters indicate significant difference between processes according to Tukey’s HSD test, at  $\pm 0.05$ .

Hemp seeds are known to contain several antinutritional compounds, among which phytic acid is the most prevalent, reaching levels of up to 22.5 mg/g in whole seeds [47].

Other constituents include lignin, tannins, and protease inhibitors, such as trypsin inhibitors, which have also been detected in hemp seed meal [5]. These substances are predominantly located in the cotyledons and seed coats. Phytates exert their antinutritional effect by chelating essential minerals, particularly iron (Fe) and zinc (Zn), thereby reducing their bioavailability and impairing protein digestibility [48].

From an industrial perspective, hemp seed oil cake is often processed and marketed as hemp protein meal (HPM) [49] and is increasingly used as a high-protein and energy-rich feed additive in animal nutrition. Recent studies, including Kasula et al. [45] and Dong et al. [46], have confirmed the safety and efficacy of hemp seed cake, highlighting its nutrient-rich composition and absence of significant antinutritional risks when adequately processed. Kasula et al. [45] specifically emphasized the safety profile of hemp seed cake, noting negligible levels of antinutritional factors like cannabinoids, mycotoxins, and heavy metals, which further supports its inclusion in balanced animal diets.

Additionally, bioactive phenolic compounds, such as those identified by Sieger et al. [50] in cold-pressed hemp oil, exhibit strong antioxidant properties. These compounds may partially counteract the effects of antinutritional substances like phytates, enhancing the overall nutritional and functional value of hemp-derived products.

While indigestible carbohydrates such as T-NSP may reduce nutrient availability, they are also considered functional dietary fibers in human diets, contributing positively to gut health and supporting microbiota activity [51]. In humans, daily phytic acid intakes of up to 1% of the total diet (250–500 mg/day) are considered safe. Importantly, none of the analyzed variants in this study exceeded this threshold, suggesting that hemp cake—including HHC—can be safely incorporated into balanced diets when consumed in moderation.

### 3.2.2. Substances from Fiber Fractions

TPC in the tested HCs, expressed in mg of gallic acid equivalents (GAEs), ranged from 0.98 to 2.48 mg GAE/g dry matter (D.M.) (Table 6). These values are lower than the range reported by Chen et al. [52] (3.9–15.6 mg GAE/g D.M.) and fall within the upper range observed by Leonard et al. [53]. This suggests that while hemp cake retains a portion of phenolic compounds, their concentration is highly influenced by the oil extraction method and the presence or absence of the seed hull. Recent research highlights the growing interest in hemp seed-derived polyphenols and their associated biological activities [42,53].

**Table 6.** Content of antinutritional substances from fiber fraction in dry matter of hemp cake, cv. ‘Henola’, depending on the oil extraction process.

Oil Extraction Process of HC	Content (%) D.M.				
	KL	RFO	DF	PA	TPC <sup>1</sup>
1 cold pressing (55 °C) of DHC	2.80 ± 0.03 <sup>a2</sup>	1.49 ± 0.00 <sup>b</sup>	9.39 ± 0.02 <sup>a</sup>	1.08 ± 0.01 <sup>a</sup>	1.96 ± 0.00 <sup>ab</sup>
2 cold pressing (55 °C) of DHC	1.99 ± 0.03 <sup>a</sup>	1.18 ± 0.00 <sup>b</sup>	6.67 ± 0.01 <sup>a</sup>	1.16 ± 0.00 <sup>a</sup>	0.98 ± 0.01 <sup>a</sup>
1 hot pressing (90 °C) of DHC	2.26 ± 0.01 <sup>a</sup>	1.78 ± 0.02 <sup>b</sup>	8.37 ± 0.07 <sup>a</sup>	1.41 ± 0.01 <sup>b</sup>	1.31 ± 0.02 <sup>a</sup>
1 cold pressing (55 °C) of HHC	20.62 ± 0.21 <sup>b</sup>	0.63 ± 0.02 <sup>a</sup>	51.81 ± 0.24 <sup>b</sup>	1.59 ± 0.01 <sup>b</sup>	2.48 ± 0.02 <sup>b</sup>

<sup>1</sup> mg GAE g<sup>-1</sup> D.M. <sup>2</sup> Small letters indicate significant difference between processes according to Tukey’s HSD test, at  $p = 0.05$ .

Among fiber-associated compounds, lignin and phytates—once considered antinutritional—are now increasingly recognized for their antioxidant properties [43,54]. Specific phenolic amides

such as lignanamides, including cannabisin A, C, D, and M, exhibit notable antioxidant activity in DPPH radical scavenging assays, comparable to that of quercetin [55]. Cannabisin B demonstrates free radical neutralization and induces autophagic cell death in HepG2 liver cells [56]. Additionally, cannabisin Q and several related lignanamides have shown inhibitory effects on TNF- $\alpha$  release from LPS-induced BV2 microglial cells, indicating possible neuroprotective potential against neurodegenerative disorders [57].

All DHC products tested in this study were characterized by lower TPC levels (<1.97 mg GAE/g D.M.) and insoluble dietary fiber contents (DF, 6.67–9.39%) compared to HHC, which contained 2.48 mg GAE/g D.M. TPC and 51.81% DF. A significant reduction in PA content was observed in both single and double cold-pressed DHC variants (1.08% and 1.16%) compared to hot-pressed DHC (1.41%) and HHC (1.59%). This decrease may suggest that phenolic acid degradation is more pronounced under cold pressing than at higher temperatures, potentially due to reduced matrix stability or shorter exposure to oxidative stress.

### 3.3. Storage Tests of Hemp By-Products

The results of this study indicate that HCs, due to their relatively high lipid content, are susceptible to both oxidative and hydrolytic degradation over time. A comparison between HHC and DHC variants revealed distinct degradation patterns: HHC displayed higher acid values (AVs), indicating accelerated fat hydrolysis, while DHC exhibited higher peroxide values (PVs), signaling increased primary lipid oxidation (Table 7). Both types of cakes maintained acceptable quality during the first 1–3 months post-extraction. However, by the 6th month, Totox index values exceeded 15 in both HHC and DHC, indicating significant quality deterioration and reduced suitability for human consumption. These values were notably higher than those typically observed in soy-based analogs, suggesting lower oxidative stability of hemp seed-derived by-products under comparable storage conditions. These findings are consistent with the conclusions drawn by Callaway [5], who emphasized the vulnerability of hemp seed lipids to oxidative degradation due to their high content of PUFAs. Furthermore, Siger et al. [50] confirmed that although cold-pressed hemp seed oil contains natural antioxidants, including phenolic compounds, their concentration may be insufficient to fully protect the oil from progressive oxidative degradation over time. In our study, this was particularly evident in DHC, where peroxide values were higher despite the absence of hull-derived fiber matrices that could serve as additional antioxidant reservoirs. From a practical perspective, HHC may be better suited to use in ruminant feeds, where slower oxidation and a higher fiber content are desirable. DHC, on the other hand, presents better sensory and nutritional quality for human consumption, especially when consumed within three months of production. However, its higher oxidative susceptibility necessitates the application of protective storage strategies, including vacuum sealing and the elimination of light exposure. These observations contribute to the development of storage guidelines for hemp-derived food ingredients, highlighting the critical balance between technological processing (dehulling, pressing), product composition, and oxidative stability. The presence of the seed hull in hemp cakes was shown to enhance oxidative stability by reducing the formation of primary oxidation products, as reflected by lower peroxide values (PVs).

However, it simultaneously promoted lipid hydrolysis, resulting in significantly elevated acid values (AVs). This trade-off is consistent with structural and compositional interactions described in food by-products with high fiber contents. These observations are supported by the findings of Leonard et al. [58], who emphasized that the physical architecture of fiber-rich plant by-products, including hulls, can act as both protective

barriers against oxygen diffusion and sites of accelerated lipid breakdown due to retained water and endogenous enzymes.

**Table 7.** Storage parameters of hemp cakes made from seeds, cv. ‘Henola’, depending on the time after the oil extraction process.

HC	Length of Trial (Month)	AV (mg g <sup>-1</sup> KOH)	PV (meq O <sub>2</sub> kg <sup>-1</sup> )	ANV	Totox Index
HHC	1	8.90 <sup>A 1</sup>	0.10 <sup>A</sup>	3.43 <sup>B</sup>	3.63 <sup>A</sup>
	3	21.93 <sup>B</sup>	0.66 <sup>A</sup>	6.00 <sup>B</sup>	7.32 <sup>A</sup>
	6	80.67 <sup>B</sup>	4.12 <sup>A</sup>	6.98 <sup>A</sup>	15.21 <sup>A</sup>
DHC	1	9.95 <sup>A</sup>	1.20 <sup>A</sup>	0.40 <sup>A</sup>	2.80 <sup>A</sup>
	3	17.70 <sup>A</sup>	5.75 <sup>B</sup>	0.82 <sup>A</sup>	12.32 <sup>B</sup>
	6	58.00 <sup>A</sup>	6.79 <sup>A</sup>	5.54 <sup>A</sup>	19.12 <sup>B</sup>

<sup>1</sup> Capital letters indicate significant differences between HHC and DHC at the same length of trial according to the *t*-Student test, at *p* = 0.05.

#### 3.4. Storage Test of Hemp Oil

The results of this study revealed that hemp oil (cv. ‘Henola’) is highly susceptible to chemical degradation during storage. A sharp increase in AV was observed after three months—from 7.52 to 16.80 mg/g KOH—indicating the release of free fatty acids and the progression of lipid hydrolysis (Table 8). This increase corresponded to a nine-fold rise in free fatty acid (FFA) content, from 0.90% to 8.40%, expressed as oleic acid. Interestingly, the PV, which indicates primary oxidation products, initially decreased slightly between month one and month three (from 2.28 to 1.80 meq O<sub>2</sub>/kg). This may be attributed to the decomposition of hydroperoxides into secondary oxidation products—a well-documented phenomenon in oil storage studies. By the sixth month, however, PV doubled to 4.89 meq O<sub>2</sub>/kg, clearly indicating renewed oxidative activity and the breakdown of fatty acid structures. Overall, the Totox index, a composite indicator of total oxidation (TI = 2PV + ANV), rose from 5.05 in fresh oil to 10.73 after six months, exceeding the acceptable threshold for oil quality and confirming that the product had lost oxidative stability (Table 8).

**Table 8.** Storage parameters of hemp oil, ‘Henola’ variety, and total degree of product oxidation.

Length of Trial (Month)	AV (mg g <sup>-1</sup> KOH)	FFA (%)	PV (meq O <sub>2</sub> kg <sup>-1</sup> Oil)	ANV	Totox Index
1	7.52 <sup>a 1</sup>	0.90 <sup>a</sup>	2.28 <sup>a</sup>	0.50 <sup>a</sup>	5.05 <sup>a</sup>
3	16.80 <sup>b</sup>	8.40 <sup>b</sup>	1.80 <sup>a</sup>	0.90 <sup>a</sup>	4.50 <sup>a</sup>
6	19.22 <sup>b</sup>	1.60 <sup>a</sup>	4.89 <sup>b</sup>	0.95 <sup>a</sup>	10.73 <sup>b</sup>

<sup>1</sup> Small letters indicate significant differences between months for oil trials according to the HSD-Tukey test, at *p* = 0.05.

Vacuum oven drying (VOD) is an economical method with adjustable drying parameters to avoid protein denaturation and loss of bioactive components [59]. The effects of the drying method on physicochemical, functional, and nutritional properties of HM-PI were investigated as a first step on the potential of HM-PI as a food ingredient. These findings are consistent with previous studies that have demonstrated the limited shelf life of cold-pressed hemp seed oil, particularly due to its high content of PUFAs, which are prone to both hydrolytic and oxidative degradation. Their study highlighted that mild drying conditions (e.g., low-temperature convection or VOD) preserved lipid integrity and minimized free fatty acid release, whereas more aggressive treatments resulted in increased

acid values and peroxide accumulation, both of which are consistent with the degradation patterns observed in our stored hemp oil samples. Debedas et al. [60] also emphasize that cold pressed oils are quite susceptible to oxidation, easily initiated by factors such as light and temperature. During processing and storage as food, the oxidative stability of such oils is of great importance to ensure that the final product is healthy and safe throughout its shelf life. The current work, together with previous findings, reinforces the notion that hemp seed-derived lipid fractions are highly sensitive to environmental and processing stress. As such, maintaining low-oxygen, low-temperature storage conditions—in combination with optimized post-extraction handling—is critical to preserving product quality and extending the shelf life [61]. Given the observed instability after three months, hemp oil should be marketed and consumed promptly after extraction, and product labeling should clearly reflect expiration timelines and storage recommendations [62].

### 3.5. Microbiological Status of Hemp By-Products

The microbiological status of hemp seed cakes was evaluated over a six-month storage period to assess hygienic safety and potential shelf-life implications. Overall, the results indicate that the microbial quality of both HHCs and DHCs remained within acceptable safety limits during storage (Table 9). In HHC, a gradual increase in the total count of MAM was observed—from <100 cfu/g at baseline to 9980 cfu/g after six months. A similar trend was noted for Y&M, which reached 279 cfu/g. This increase is likely attributed to residual fungal spores and aerobic bacteria colonizing the outer hull, which may act as a microenvironment favorable to microbial persistence.

**Table 9.** Colony forming unit (cfu g<sup>-1</sup>) increase in microbiological activity in hemp cakes.

HC	Month	MAM at 30 °C	<i>Coli</i>	Y&M	<i>Enterobacteriaceae</i>	CPS	<i>Salmonella</i>
HHC	1	<100	<10	<10	<10	<10	nd <sup>1</sup>
	3	240	<10	<100	<10	<10	Nd
	6	9980	<100	279	<50	<10	Nd
DHC	1	<100	<10	<10	<10	<10	Nd
	3	<100	<10	<100	<10	<10	Nd
	6	1000	<10	<100	<10	<10	Nd

<sup>1</sup> Not detected.

Despite the moderate microbial growth in HHC, all measured values remained below internationally accepted safety thresholds. No coliforms, coagulase-positive staphylococci (CPS), or *Enterobacteriaceae* were detected at levels above the detection limit at any time point, and *Salmonella* spp. was not detected in any sample. In contrast, DHC products exhibited excellent microbiological stability. Across the entire storage period, MAM counts remained consistently low ( $\leq 1000$  cfu/g), and Y&M counts did not exceed 100 cfu/g. No indicator or pathogenic bacteria were detected in DHC samples. The microbiological stability of food industry by-products such as oilcakes is dependent on many factors, including moisture content, storage conditions, and the presence of natural antibacterial compounds. Although specific research on hemp oilcakes is limited, analyses of other cold-pressed oils suggest that the presence of natural antioxidants may also contribute to inhibiting the growth of some microorganisms [61]. Although data for hemp cakes are limited, Parry et al. [63] showed that the phenolic content of berry seed oils affects not only antioxidant properties but also microbial growth inhibition. Analogous mechanisms may occur in hemp cakes, especially when they contain residual amounts of fat rich in bioactive compounds.

### 3.6. Sensorial Analysis

The sensorial quality of hemp seed cakes was evaluated at 1, 3, and 6 months of storage using a trained three-member panel under standardized laboratory conditions. The evaluated parameters included general appearance, consistency, color, and odor. Across all time points, both HHC and DHC maintained favorable and stable organoleptic properties (Table 10). Both product types exhibited a loose, free-flowing texture, with no evidence of caking or clumping. Color remained stable throughout storage: HHC retained a grayish-brown hue, while DHC maintained a lighter beige tone. In terms of smell, DHC was perceived as more aromatic and herbaceous, while HHC exhibited a milder, plant-based aroma. These results support the conclusion that hemp cake is organoleptically stable over six months under appropriate storage conditions.

**Table 10.** Sensorial characteristics of hemp cakes during storage.

HC	Month	General Appearance	Consistency	Color	Smell
HHC	1	Clean, uniform, free of contamination	Dry, loose, non-caking	Grayish-brown	Mild, plant-based
	3	No visual change	Stable	Stable	Slight fading of aroma
	6	No visual change	Stable	Stable	Still acceptable, low intensity
DHC	1	Clean, uniform, no visible contamination	Dry, loose, non-caking	Beige	Fresh, aromatic, herbaceous
	3	No visual change	Stable	Stable	Maintained strong aroma
	6	No visual change	Stable	Stable	Aromatic intensity preserved

Studies on cold-pressed oils indicate that the presence of natural antioxidants can affect the sensory profile of the product, giving it a characteristic aroma and taste. However, a high content of polyunsaturated fatty acids can lead to a faster deterioration of sensory characteristics due to oxidation processes [64]. Similarly, Karamać et al. [65] found that hulls in oilseed residues can help delay sensory degradation by contributing phenolic compounds with antioxidant activity. Moreover, Matthäus and Brühl [66] emphasized that cold-pressed oilseed co-products retain their natural aroma and taste when stored away from light and oxygen—conditions that were met in this study. The fact that both HHC and DHC maintained a consistent sensory quality over time further supports their application as functional and shelf-stable food ingredients. From a microbiological perspective, no spoilage-related odors or discoloration were detected in any of the samples, which aligns with the results of the microbial assays and reinforces the sensory findings.

## 4. Conclusions

This study provides the first comprehensive evaluation of the long-term storage stability and nutritional dynamics of dehulled and hulled hemp cakes derived from the ‘Henola’ variety under real storage conditions. The comparison of processing variants revealed significant differences in protein content, fiber levels, oxidative resistance, and microbial safety. Dehulled hemp cake (DHC) proved especially promising due to its high

nutritional density and superior shelf-life characteristics. The results provide a scientific basis for the development of hemp-based food supplements or animal feed formulations, particularly where shelf stability and nutritional density are crucial. This study highlights the significant impact of seed dehulling and processing conditions on the nutritional and functional value of hemp seed cake. Dehulled hemp cake (DHC) demonstrated superior protein and oil contents, reduced fiber and antinutritional compounds, and greater microbiological stability during storage. In contrast, hulled hemp cake (HHC) offered a higher dietary fiber content and slower primary lipid oxidation, suggesting its potential use in high-fiber food or feed products. Both types of hemp cake maintained organoleptic stability over a six-month period, supporting their suitability for shelf-stable formulations. Given the favorable fatty acid profiles, safe microbial status, and versatile macronutrient composition, cold-pressed hemp seed cake—particularly DHC—represents a valuable co-product for the development of functional foods, high-protein formulations, or feed supplements. Further research should explore its bioactive compound retention and consumer acceptability in final products.

## 5. Patents

[P] A. Wenda-Piesik., K. Ambroziak. ‘Method of producing protein-energy products based on oil seeds derived from soybean and hemp seeds’. The application was numbered: P.450940.

**Author Contributions:** Conceptualization, K.A.; methodology, K.A.; validation, K.A. and A.W.-P.; formal analysis, K.A. and A.W.-P.; investigation, K.A.; writing—original draft preparation, K.A. and A.W.-P.; writing—review and editing, A.W.-P.; project administration, A.W.-P.; funding acquisition, A.W.-P. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

**Funding:** This research was financed by the Ministry of Science and High Education, Republic of Poland, under the Implementation Doctorate Grant Number: DWD/5/0047/2021.

**Institutional Review Board Statement:** This study was conducted in accordance with the Declaration of Helsinki, and the protocol was approved by the Local Ethics Committee, PBS University of Science and Technology, Bydgoszcz, Poland under Grant DWD/5/0047/2021, on 10 January 2024.

**Informed Consent Statement:** Informed consent was obtained from all subjects involved in this study.

**Data Availability Statement:** The data presented in this study are available on request from the corresponding author due to privacy.

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

## References

1. Williams, D.W. (Ed.) *Industrial Hemp as a Modern Commodity Crop*; ASA, CSSA, and SSSA Books; American Society of Agronomy Crop Science Society of America Soil Science Society of America: Madison, WI, USA, 2019. [CrossRef]
2. Dzierżanowski, T. Cannabinoids—The possible use in palliative medicine. *Med. Paliatywna/Palliat. Med.* **2018**, *10*, 1–11. [CrossRef]
3. Rolnictwo i Rozwój Obszarów Wiejskich—Komisja Europejska. Available online: [https://agriculture.ec.europa.eu/index\\_pl](https://agriculture.ec.europa.eu/index_pl) (accessed on 10 March 2025).
4. Irakli, M.; Tsaliki, E.; Kalivas, A.; Kleisaris, F.; Sarrou, E.; Cook, C. Effect of Genotype and Growing Year on the Nutritional, Phytochemical, and Antioxidant Properties of Industrial Hemp (*Cannabis sativa* L.) Seeds. *Antioxidants* **2019**, *8*, 491. [CrossRef] [PubMed]
5. Callaway, J.C. Hempseed as a nutritional resource: An overview. *Euphytica* **2004**, *140*, 65–72. [CrossRef]
6. Petrović, M.; Debeljak, Ž.; Kezić, N.; Džidara, P. Relationship between cannabinoids content and composition of fatty acids in hempseed oils. *Food Chem.* **2015**, *170*, 218–225. [CrossRef]
7. di Giacomo, V.; Ferrante, C.; Menghini, L.; Orlando, G. Chapter 8—Nutraceutical potential of industrial hemp. In *Industrial Hemp*; Pojić, M., Tiwari, B.K., Eds.; Academic Press: Cambridge, MA, USA, 2022; pp. 173–190. [CrossRef]

8. Karabulut, G.; Kahraman, O.; Pandalaneni, K.; Kapoor, R.; Feng, H. A comprehensive review on hempseed protein: Production, functional and nutritional properties, novel modification methods, applications, and limitations. *Int. J. Biol. Macromol.* **2023**, *253*, 127240. [CrossRef]
9. Kamle, M.; Mahato, D.K.; Sharma, B.; Gupta, A.; Shah, A.K.; Mahmud, M.C.; Agrawal, S.; Singh, J.; Rasane, P.; Shukla, A.C.; et al. Nutraceutical potential, phytochemistry of hemp seed (*Cannabis sativa* L.) and its application in food and feed: A review. *Food Chem. Adv.* **2024**, *4*, 100671. [CrossRef]
10. Fraś, A.; Gzowska, M.; Wiśniewska, M. Nutritional Value Evaluation of New Pea Genotypes (*Pisum sativum* L.) Based on Their Chemical, Amino Acids and Dietary Fiber Composition. *Molecules* **2024**, *29*, 5033. [CrossRef]
11. House, J.D.; Neufeld, J.; Leson, G. Evaluating the Quality of Protein from Hemp Seed (*Cannabis sativa* L.) Products Through the use of the Protein Digestibility-Corrected Amino Acid Score Method. *J. Agric. Food Chem.* **2010**, *58*, 11801–11807. [CrossRef]
12. Odani, S.; Odani, S. Isolation and Primary Structure of a Methionine- and Cystine-rich Seed Protein of *Cannabis sativa*. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **1998**, *62*, 650–654. [CrossRef]
13. Apostol, L.; Popa, M. *Cannabis sativa* L. partially skimmed flour as source of bio-compounds in the bakery industry. *Rom. Biotechnol. Lett.* **2015**, *20*, 10835–10844.
14. Worobiej, E.; Mądrzak, J.; Piecyk, M. Zawartość wybranych składników odżywczych i związków biologicznie aktywnych w produktach z konopi siewnych (*Cannabis sativa* L.) oraz kasztanów jadalnych (*Castanea sativa* Mill.). *Bromat. Chem. Toksykol.* **2015**, *48*, 573–577.
15. Brenneisen, R. Chemistry and Analysis of Phytocannabinoids and Other Cannabis Constituents. In *Marijuana and the Cannabinoids; Humana: Totowa, NJ, USA, 2007*; pp. 17–49. [CrossRef]
16. Leonard, W.; Zhang, P.; Ying, D.; Fang, Z. Hempseed in food industry: Nutritional value, health benefits, and industrial applications. *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.* **2020**, *19*, 282–308. [CrossRef] [PubMed]
17. Lin, Y.; Pangloli, P.; Dia, V.P. Physicochemical, functional and bioactive properties of hempseed (*Cannabis sativa* L.) meal, a co-product of hempseed oil and protein production, as affected by drying process. *Food Chem.* **2021**, *350*, 129188. [CrossRef] [PubMed]
18. Girgih, A.T.; Alashi, A.M.; He, R.; Malomo, S.A.; Raj, P.; Netticadan, T.; Aluko, R.E. A Novel Hemp Seed Meal Protein Hydrolysate Reduces Oxidative Stress Factors in Spontaneously Hypertensive Rats. *Nutrients* **2014**, *6*, 5652–5666. [CrossRef]
19. Zuk-Golaszewska, K.; Gołaszewski, J. *Cannabis sativa* L.—Cultivation and quality of raw material. *J. Elem.* **2018**, *23*, 971–984. [CrossRef]
20. Farinon, B.; Molinari, R.; Costantini, L.; Merendino, N. The Seed of Industrial Hemp (*Cannabis sativa* L.): Nutritional Quality and Potential Functionality for Human Health and Nutrition. *Nutrients* **2020**, *12*, 1935. [CrossRef]
21. Hong, S.; Lin, Y.; Dia, V.P. Anti-inflammatory and antioxidant properties of hempseed protein enzymatic hydrolysates. *Food Hydrocoll. Health* **2022**, *2*, 100082. [CrossRef]
22. Kara, Ş.; Gul, V.; Kiralan, M. Fatty acid composition of hempseed oils from different localities in Turkey. *Span. J. Agric. Res.* **2010**, *8*, 385–390. [CrossRef]
23. Dąbrowski, G.; Skrajda-Brdak, M. Frakcja lipidowa i białkowa nasion konopi siewnych (*C. sativa* L.) oraz jej korzystny wpływ na zdrowie człowieka = Lipid and protein fraction of hemp seed (*C. sativa* L.) and its beneficial influence on human health. *J. Educ. Health Sport* **2016**, *6*, 357–366. [CrossRef]
24. Spano, M.; Di Matteo, G.; Rapa, M.; Ciano, S.; Ingallina, C.; Cesa, S.; Menghini, L.; Carradori, S.; Giusti, A.M.; Di Sotto, A.; et al. Commercial Hemp Seed Oils: A Multimethodological Characterization. *Appl. Sci.* **2020**, *10*, 6933. [CrossRef]
25. Chen, J.; Liu, H. Nutritional Indices for Assessing Fatty Acids: A Mini-Review. *Int. J. Mol. Sci.* **2020**, *21*, 5695. [CrossRef] [PubMed]
26. Chang, C.-S.; Sun, H.-L.; Lii, C.-K.; Chen, H.-W.; Chen, P.-Y.; Liu, K.-L. Gamma-Linolenic Acid Inhibits Inflammatory Responses by Regulating NF-κB and AP-1 Activation in Lipopolysaccharide-Induced RAW 264.7 Macrophages. *Inflammation* **2009**, *33*, 46–57. [CrossRef]
27. Mendoza-Pérez, R.J.; Náthia-Neves, G.; Blanco, B.; Vela, A.J.; Caballero, P.A.; Ronda, F. Physicochemical Characterisation of Seeds, Oil and Defatted Cake of Three Hempseed Varieties Cultivated in Spain. *Foods* **2024**, *13*, 531. [CrossRef] [PubMed]
28. Міщенко, С.В.; Лайко, І.М. Накопичення канабідіолу в онтогенезі рослин технічних (промислових) конопель. *Plant Var. Stud. Prot.* **2018**, *14*, 4. [CrossRef]
29. Burczyk, H.; Frankowski, J. Henola—Pierwsza Polska Odmiana Konopi Oleistych. 2018. Available online: <https://api.semanticscholar.org/CorpusID:216998383> (accessed on 10 March 2025).
30. Englyst, H.; Cummings, J. Simplified method for the measurement of total non-starch polysaccharides by GLC of constituent sugars as alditol acetates. *Analyst* **1984**, *109*, 937–942. [CrossRef]
31. [AACC] American Association of Cereal Chemists. *Approved Methods of the American Association of Cereal Chemists*, 8th ed.; American Association of Cereal Chemist: St. Paul, MN, USA, 2010.
32. [AOAC] Association of Official Analytical Chemist. *Official Method of Analysis of The Association of Official Analytical of Chemist; Association of Official Analytical Chemist, Inc.: Arlington, VA, USA, 1990.*

33. Theander, O.; Westerlund, E.A. Studies on dietary fiber. 3. Improved procedures for analysis of dietary fiber. *J. Agric. Food Chem.* **1986**, *34*, 330–336. [[CrossRef](#)]
34. Scott, R.W. Colorimetric determination of hexuronic acids in plant materials. *Anal. Chem.* **1979**, *51*, 936–941. [[CrossRef](#)]
35. Englyst, H.N.; Quigley, M.E.; Hudson, G.J.; Cummings, J.H. Determination of dietary fibre as non-starch polysaccharides by gas-liquid chromatography. *Analyst* **1992**, *117*, 1707–1714. [[CrossRef](#)]
36. Lahuta, L. Biosynthesis of raffinose family oligosaccharides and galactosyl pinitols in developing and maturing seeds of winter vetch (*Vicia villosa* Roth.). *Acta Soc. Bot. Pol.* **2006**, *75*, 219–227. [[CrossRef](#)]
37. Haug, W.; Lantzsch, H.-J. Sensitive method for the rapid determination of phytate in cereals and cereal products. *J. Sci. Food Agric.* **1983**, *34*, 1423–1426. [[CrossRef](#)]
38. Shahidi, F.; Naczyk, N. Methods of Analysis and Quantification of Phenolic Compounds. In *Food Phenolics: Sources, Chemistry, Effects and Applications*; Technomic Publishing Company: Lancaster, PA, USA, 1995; pp. 287–293.
39. Wang, Q.; Xiong, Y. Processing, Nutrition, and Functionality of Hempseed Protein: A Review. *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.* **2019**, *18*, 936–952. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
40. Leonard, W.; Zhang, P.; Ying, D.; Xiong, Y.; Fang, Z. Effect of extrusion technology on hempseed (*Cannabis sativa* L.) oil cake: Polyphenol profile and biological activities. *J. Food Sci.* **2021**, *86*, 3159–3175. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
41. Galasso, I.; Russo, R.; Mapelli, S.; Ponzoni, E.; Brambilla, I.M.; Battelli, G.; Reggiani, R. Variability in Seed Traits in a Collection of *Cannabis sativa* L. Genotypes. *Front. Plant Sci.* **2016**, *7*, 688. [[CrossRef](#)]
42. Shen, P.; Gao, Z.; Xu, M.; Rao, J.; Chen, B. Physicochemical and structural properties of proteins extracted from dehulled industrial hempseeds: Role of defatting process and precipitation pH. *Food Hydrocoll.* **2020**, *108*, 106065. [[CrossRef](#)]
43. Tufarelli, V.; Losacco, C.; Tedone, L.; Passantino, L.; Tarricone, S.; Laudadio, V.; Colonna, M.A. Hemp seed (*Cannabis sativa* L.) cake as sustainable dietary additive in slow-growing broilers: Effects on performance, meat quality, oxidative stability and gut health. *Vet. Q.* **2023**, *43*, 1–12. [[CrossRef](#)]
44. Papatzimos, G.; Kasapidou, E. Review of hemp components as functional feed and food ingredients: Impact on animal product quality traits and nutritional value. *Explor. Foods Foodomics* **2024**, *2*, 6. [[CrossRef](#)]
45. Kasula, R.; Solis, F.; Shaffer, B.; Connett, F.; Barrett, C.; Cocker, R.; Willingham, E. Characterization of the Nutritional and Safety Properties of Hemp Seed Cake as Animal Feed Ingredient. *Int. J. Livest. Prod.* **2021**, *12*, 53–63. [[CrossRef](#)]
46. Dong, X.; Woo, M.W.; Quek, S.Y. The physicochemical properties, functionality, and digestibility of hempseed protein isolate as impacted by spray drying and freeze drying. *Food Chem.* **2024**, *433*, 137310. [[CrossRef](#)]
47. Russo, R.; Reggiani, R. Evaluation of Protein Concentration, Amino Acid Profile and Antinutritional Compounds in Hempseed Meal from Dioecious and Monoecious Varieties. *Am. J. Plant Sci.* **2015**, *6*, 14–22. [[CrossRef](#)]
48. Kumar, V.; Sinha, A.K.; Makkar, H.P.S.; Becker, K. Dietary roles of phytate and phytase in human nutrition: A review. *Food Chem.* **2010**, *120*, 945–959. [[CrossRef](#)]
49. Malomo, S.A.; Aluko, R.E. Conversion of a low protein hemp seed meal into a functional protein concentrate through enzymatic digestion of fibre coupled with membrane ultrafiltration. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.* **2015**, *31*, 151–159. [[CrossRef](#)]
50. Siger, A.; Nogala, M.; Lampart-Szczapa, E. The content and antioxidant activity of phenolic compounds in cold-pressed plant oils. *J. Food Lipids* **2008**, *15*, 137–149. [[CrossRef](#)]
51. Ahnen, R.T.; Jonnalagadda, S.S.; Slavin, J.L. Role of plant protein in nutrition, wellness, and health. *Nutr. Rev.* **2019**, *77*, 735–747. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
52. Chen, T.; He, J.; Zhang, J.; Li, X.; Zhang, H.; Hao, J.; Li, L. The isolation and identification of two compounds with predominant radical scavenging activity in hempseed (seed of *Cannabis sativa* L.). *Food Chem.* **2012**, *134*, 1030–1037. [[CrossRef](#)]
53. Leonard, W.; Zhang, P.; Ying, D.; Xiong, Y.; Fang, Z. Extrusion improves the phenolic profile and biological activities of hempseed (*Cannabis sativa* L.) hull. *Food Chem.* **2021**, *346*, 128606. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
54. Chen, Z.; Xie, Y.; Khan, S.; Singh, S.; Yu, C.; Cheng, G. Recent advances in biological activities of lignin and emerging biomedical applications: A short review. *Int. J. Biol. Macromol.* **2022**, *208*, 819–832. [[CrossRef](#)]
55. Yan, X.; Tang, J.; dos Santos Passos, C.; Nurisso, A.; Simões-Pires, C.A.; Ji, M.; Lou, H.; Fan, P. Characterization of Lignanamides from Hemp (*Cannabis sativa* L.) Seed and Their Antioxidant and Acetylcholinesterase Inhibitory Activities. *J. Agric. Food Chem.* **2015**, *63*, 10611–10619. [[CrossRef](#)]
56. Chen, T.; Hao, J.; He, J.; Zhang, J.; Li, Y.; Liu, R.; Li, L. Cannabin B induces autophagic cell death by inhibiting the AKT/mTOR pathway and S phase cell cycle arrest in HepG2 cells. *Food Chem.* **2013**, *138*, 1034–1041. [[CrossRef](#)]
57. Zhou, Y.; Wang, S.; Ji, J.; Hongxiang, L.; Fan, P. Hemp (*Cannabis sativa* L.) Seed Phenylpropionamides Composition and Effects on Memory Dysfunction and Biomarkers of Neuroinflammation Induced by Lipopolysaccharide in Mice. *ACS Omega* **2018**, *3*, 15988–15995. [[CrossRef](#)]
58. Leonard, W.; Zhang, P.; Ying, D.; Fang, Z. Application of extrusion technology in plant food processing byproducts: An overview. *Comp. Rev. Food Sci. Food Saf.* **2020**, *19*, 218–246. [[CrossRef](#)]

59. Feyzi, S.; Varidi, M.; Zare, F.; Varidi, M.J. Effect of Drying Methods on the Structure, Thermo and Functional Properties of Fenugreek (*Trigonella foenum graecum*) Protein Isolate. *J. Sci. Food Agric.* **2018**, *98*, 1880–1888. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
60. Dedebas, T.; Ekici, L.; Sagdic, O. Chemical characteristics and storage stabilities of different cold-pressed seed oils. *J. Food Process. Preserv.* **2021**, *45*, e15107. [[CrossRef](#)]
61. Grajzer, M.; Szmalcel, K.; Kuźmiński, Ł.; Witkowski, M.; Kulma, A.; Prescha, A. Characteristics and Antioxidant Potential of Cold-Pressed Oils-Possible Strategies to Improve Oil Stability. *Foods* **2020**, *9*, 1630. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
62. Prescha, A.; Grajzer, M.; Dedyk, M.; Grajeta, H. The Antioxidant Activity and Oxidative Stability of Cold-Pressed Oils. *J. Am. Oil Chem. Soc.* **2014**, *91*, 1291–1301. [[CrossRef](#)]
63. Parry, J.; Su, L.; Luther, M.; Zhou, K.; Yurawecz, M.P.; Whittaker, P.; Yu, L. Fatty Acid Composition and Antioxidant Properties of Cold-Pressed Marionberry, Boysenberry, Red Raspberry, and Blueberry Seed Oils. *J. Agric. Food Chem.* **2005**, *53*, 566–573. [[CrossRef](#)]
64. Symoniuk, E.; Wroniak, M.; Napiórkowska, K.; Brzezińska, R.; Ratusz, K. Oxidative Stability and Antioxidant Activity of Selected Cold-Pressed Oils and Oils Mixtures. *Foods* **2022**, *11*, 1597. [[CrossRef](#)]
65. Orak, H.; Karamač, M.; Orak, A.; Amarowicz, R. Antioxidant Potential and Phenolic Compounds of Some Widely Consumed Turkish White Bean (*Phaseolus vulgaris* L.) Varieties. *Pol. J. Food Nutr. Sci.* **2016**, *66*, 253–260. [[CrossRef](#)]
66. Matthäus, B.; Brühl, L. Quality of cold-pressed edible rapeseed oil in Germany. *Food/Nahr.* **2003**, *47*, 413–419. [[CrossRef](#)]

**Disclaimer/Publisher’s Note:** The statements, opinions and data contained in all publications are solely those of the individual author(s) and contributor(s) and not of MDPI and/or the editor(s). MDPI and/or the editor(s) disclaim responsibility for any injury to people or property resulting from any ideas, methods, instructions or products referred to in the content.



Article

# Dual Production of Full-Fat Soy and Expanded Soybean Cake from Non-GMO Soybeans: Agronomic and Nutritional Insights Under Semi-Organic Cultivation

Krystian Ambroziak \* and Anna Wenda-Piesik \*

Department of Agronomics and Food Processing, Faculty of Agriculture and Biotechnology, Bydgoszcz University of Science and Technology, Al. Kaliskiego 7, 85-796 Bydgoszcz, Poland

\* Correspondence: krystian.ambroziak@pbs.edu.pl (K.A.); anna.wenda-piesik@pbs.edu.pl (A.W.-P.)  
Tel.: +48-694-788-708 (A.W.-P.)

## Featured Application

The developed dual production model allows for the scalable manufacturing of protein-rich, expanded soybean cake (ESC) from non-GMO soybeans under semi-organic cultivation. The ESC product can be applied in clean-label, extruded foods, functional nutrition, hybrid protein formulations, and specialized feed systems aligned with EU Green Deal objectives.

## Abstract

The diversification of plant protein sources is a strategic priority for European food systems, particularly under the EU Green Deal and Farm to Fork strategies. In this study, dual production of full-fat soy (FFS) and expanded soybean cake (ESC) was evaluated using non-GMO soybeans cultivated under semi-organic conditions in Central Poland. Two agronomic systems—post-emergence mechanical weeding with rotary harrow weed control (P1) and conventional herbicide-based control (P2)—were compared over a four-year period. The P1 system produced consistently higher yields (e.g., 35.6 dt/ha in 2024 vs. 33.4 dt/ha in P2) and larger seed size (TSW: up to 223 g). Barothermal and press-assisted processing yielded FFS with protein content of 32.4–34.5% and oil content of 20.8–22.4%, while ESC exhibited enhanced characteristics: higher protein (37.4–39.0%), lower oil (11.6–13.3%), and elevated dietary fiber (15.8–16.3%). ESC also showed reduced anti-nutritional factors (e.g., trypsin inhibitors and phytic acid) and remained microbiologically and oxidatively stable over six months. The semi-organic P1 system offers a scalable, low-input approach to local soy production, while the dual-product model supports circular, zero-waste protein systems aligned with EU sustainability targets.

**Keywords:** non-GMO soybean; semi-organic farming; barothermal processing; expanded soybean cake; protein functionality; oxidative stability; circular protein systems; EU Green Deal

Academic Editor: Monika Gibis

Received: 23 June 2025

Revised: 11 July 2025

Accepted: 21 July 2025

Published: 22 July 2025

**Citation:** Ambroziak, K.; Wenda-Piesik, A. Dual Production of Full-Fat Soy and Expanded Soybean Cake from Non-GMO Soybeans: Agronomic and Nutritional Insights under Semi-Organic Cultivation. *Appl. Sci.* **2025**, *15*, 8154. <https://doi.org/10.3390/app15158154>

**Copyright:** © 2025 by the author. 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/>).

## 1. Introduction

The diversification of plant protein sources in the European Union (EU) has become a strategic imperative in response to sustainability goals and the need for food system resilience. Replacing 50% of imported soybean meal would require approximately 6.6

million hectares of arable land to be reallocated from other crops, with Poland alone projected to expand soybean cultivation by 0.5 million hectares [1,2]. In the context of the European Green Deal and the Farm to Fork Strategy [3], the European Union promotes crop diversification—including soybean—as a key tool to enhance biodiversity and soil health, and to reduce dependency on synthetic pesticides and imported feedstocks. These policy frameworks emphasize the strategic role of protein crops in transitioning toward resilient and sustainable food systems. As noted in the 2024 European Parliament report [4] on input dependency on organic soybean imports, the EU imported approximately 192,000 tons of organic soybeans in 2022, primarily from non-EU countries such as Ukraine, Togo, and China. This dependency poses risks to supply stability, especially under global trade disruptions and geopolitical crises. The Institute for European Environmental Policy further highlights that soybeans and other protein crops currently cover less than 3% of EU arable land. Expanding domestic soybean cultivation is therefore crucial to reduce Europe's reliance on imported protein sources and to align agricultural production with agroecological and climate objectives under the Green Deal [4,5].

Soybean (*Glycine max*), characterized by its high protein yield per hectare and favorable nutritional profile, is increasingly viewed as a cornerstone crop for achieving European protein self-sufficiency. Central and Eastern European regions, including Poland, offer significant potential for soybean cultivation, provided that agro-climatic constraints are carefully addressed. According to Debaeke et al. [3], understanding the local agro-climatic constraints and designing location-specific cropping systems is crucial for developing resilient soybean production systems in new European zones.

Integrating soybean into locally tailored cropping systems offers a dual advantage: decreased dependence on imported feedstocks and improved environmental sustainability [6]. In this context, the promotion of non-GMO and ecologically suited soybean cultivars is gaining momentum, addressing both consumer demand and policy ambitions. However, as Purnhagen et al. [7] emphasize, the coexistence of strict biotechnology regulations and sustainability goals poses regulatory and agronomic challenges. Field-based approaches, exemplified by this study, provide actionable strategies for reconciling these policy objectives.

Soybean cultivation is constrained by agro-climatic factors such as shortened growing seasons, summer droughts, and regional photothermal limitations. These conditions necessitate the adoption of location-specific agronomic practices, early-maturing cultivars, and non-GMO varieties suited to temperate environments. Expanding soybean cultivation northward into temperate regions requires refinement of agronomic practices [8]. Our study addresses this premise by evaluating non-GMO, full-fat soybean cultivation under contrasting cropping systems in Central Poland. Aligning sowing dates and cultivar maturity with regional photothermal profiles remains essential for yield optimization, especially under summer drought and shortened vegetative seasons.

Klaiss et al. [9] highlight that such demand brings agronomic challenges, particularly in weed control and nitrogen management within organic and low-input systems. Our research addresses these challenges through a semi-organic cropping system that eliminates herbicides and incorporates mechanical weed control.

Tataridas et al. [10] advocate integrating mechanical tools, crop rotation, and cover crops to suppress weed populations in accordance with Green Deal principles. Similarly, Winkler et al. [11] report that conservation tillage and biodiversity-driven management can shift weed composition toward more controllable species. Recent glyphosate-alternative reports [12] and smallholder studies [13] further confirm the viability of non-chemical weed suppression strategies.

The aim of this study was to evaluate the technical feasibility and nutritional value of producing two soybean-based ingredients—full-fat soy (FFS) and expanded soybean

cake (ESC)—using a continuous barothermal processing system applied to non-GMO soybeans cultivated under semi-organic conditions in Central Poland.

The specific objectives of this study were to

- (i) Compare the agronomic performance and seed composition under semi-organic (P1) and conventional (P2) weed control systems.
- (ii) Evaluate the nutritional, functional, and anti-nutritional properties of full-fat soy (FFS) and expanded soybean cake (ESC) produced via barothermal processing.
- (iii) Assess the storage stability, oxidative safety, and microbiological quality of both products during shelf-life under ambient conditions.

It was hypothesized that barothermal-pressing combined with semi-organic cultivation would produce stable, nutritionally valuable soy ingredients suitable for circular food and feed systems aligned with EU Green Deal priorities.

## 2. Materials and Methods

### 2.1. Field Experiment and Sample Collection

Soybeans (non-GMO) were cultivated in experimental plots located in Central Poland, under semi-organic conditions aligned with Green Deal principles. After harvest, mature soybean seeds were cleaned and stored under controlled temperature and humidity prior to processing and analysis.

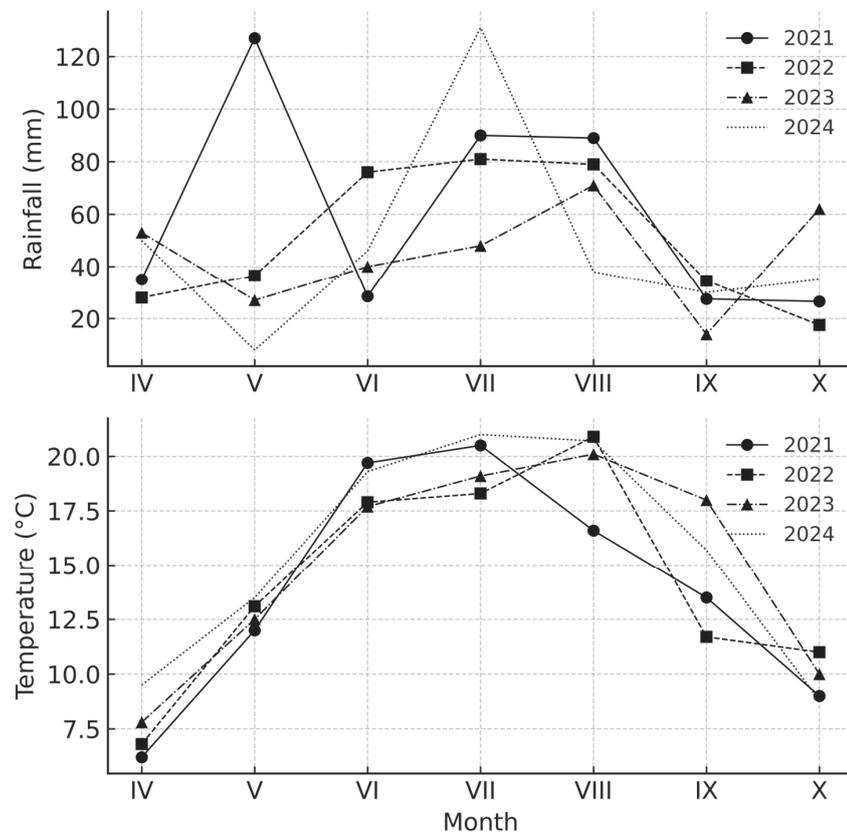
#### 2.1.1. Design and Location

Field experiments were conducted from 2021 to 2024 in Brodnica County, Kuyavian-Pomeranian Voivodeship, Poland (GPS: 53.1912 N, 19.4337 E). The soil was classified as quality class IV, with a granulometric composition of >1.0 mm: 5%, 1.0–0.1 mm: 52%, 0.1–0.02 mm: 22%, and <0.02 mm: 21%. Soil pH (1 M KCl) ranged from 6.4 to 6.6. Available nutrients included P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>: 27.3–42.0 mg/100 g, K<sub>2</sub>O: 13.6–20.2 mg/100 g, and Mg: 4.1–6.2 mg/100 g. Organic matter content remained between 1.42% and 1.51%.

Five randomized blocks (each 0.172 ha) were established, with 2 × 2 m microplots replicated five times per treatment. The total cultivated area was 4 ha.

#### 2.1.2. Climatic Conditions

Meteorological data were recorded using an automated weather station throughout the April–October growing seasons. Rainfall ranged from 525.5 mm to 561.5 mm, with notable variability in May precipitation (Figure 1). Mean temperatures varied from 6.2 °C in April to over 21 °C in July/August. The driest year was 2024 (8 mm rainfall in May), potentially influencing crop development and yield.



**Figure 1.** Distributions of total precipitation and average temperature values during the study years.

### 2.1.3. Plant Material and Agronomic Practices

The early-maturing ‘Abaca’ soybean variety (Saatbau) was used. This cultivar was selected due to its short vegetation cycle, high fat content (~22.7%), and moderate protein levels (~36.2%), which make it particularly suitable for temperate Central European agroclimatic conditions. Additionally, ‘Abaca’ has demonstrated reliable performance under drought-prone summer periods and offers favorable processing characteristics for both full-fat soy and oil-extracted products. Soybeans were sown at a density of 70 seeds/m<sup>2</sup> using a disc seeder (Agro Masz SN300, Strzelce Małe, Poland) (row spacing: 24 cm; depth: 2.5–4.5 cm). Fertilization (P + K + Ca, Mg, S) was applied uniformly (350 kg/ha annually). Herbicide regimes varied annually, with increasing reliance on mechanical weeding (P1) versus conventional chemical protection (P2).

P1 (semi-organic): post-emergence weed control was carried out mechanically twice per growing season using a rotary harrow. Herbicides were used only in pre-emergence stages and limited post-emergence applications, aligned with semi-organic practice standards.

P2 (conventional): Weed control relied exclusively on chemical herbicides, with both pre-emergence and multiple post-emergence applications. No mechanical interventions were applied in this system.

In both systems, metribuzin and S-metolachlor were used for pre-emergence control (replaced in 2024 by petoxamide + clomazone due to regulatory changes). Post-emergence treatments included bentazon + imazamox as needed (Table 1).

**Table 1.** Summary of agronomic practices for soybean cv. ‘Abaca’ cultivation from 2021 to 2024, including herbicide regimes, mechanical weeding, and key dates.

Year	Treatment	Pre-Emergence Herbicides (g ha <sup>-1</sup> )	Post-Emergence Herbicides (g ha <sup>-1</sup> )	Mechanical Weeding	Sowing Date	Harvest Date
2021	P1	Metribuzin 200 + S-metolachlor 960	None	2×	11 May	30 October
	P2	Metribuzin 200 + S-metolachlor 960	None	None	11 May	30 October
2022	P1	Metribuzin 200 + S-metolachlor 960	1× Bentazon 600 + Imazamox 28	2×	05 May	1 October
	P2	Metribuzin 200 + S-metolachlor 960	1× Bentazon 600 + Imazamox 28	None	05 May	1 October
2023	P1	Metribuzin 200 + S-metolachlor 960	2× Bentazon 300 + Imazamox 14	2×	22 April	22 September
	P2	Metribuzin 200 + S-metolachlor 960	2× Bentazon 300 + Imazamox 14	None	22 April	22 September
2024	P1	Metribuzin 240 + Clomazone 48 + Pexoxamide 800	4× Bentazon 150 + Imazamox 7	2×	27 April	9 September
	P2	Metribuzin 240 + Clomazone 48 + Pexoxamide 800	4× Bentazon 150 + Imazamox 7	None	27 April	9 September

#### 2.1.4. Sampling and Biometric Data Collection

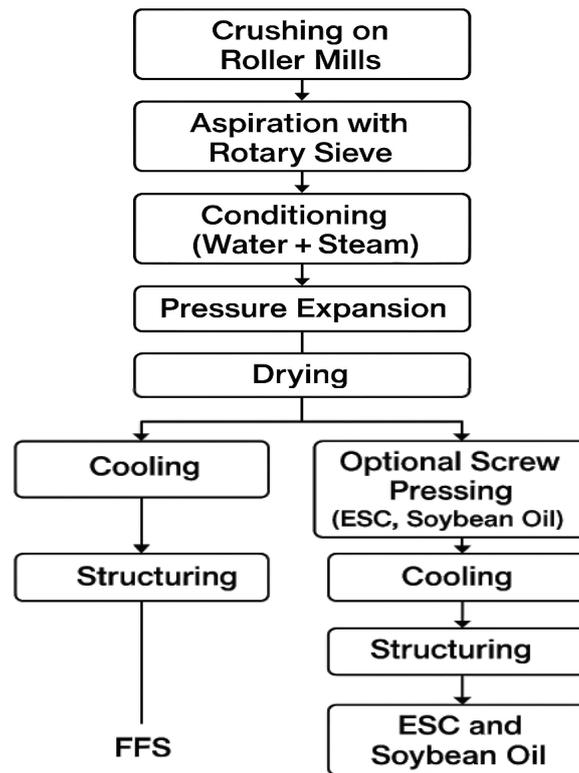
Post-emergence and pre-harvest plant density (plants per m<sup>2</sup>), plant height (cm), and pod number per plant were recorded. Ten plants per treatment were sampled for biometric traits. Yield was calculated at 13% moisture content. Thousand seed weight (TSW, g) was measured in triplicate.

#### 2.2. Laboratory Analysis of Soybean Seeds

Seed samples were analyzed using near-infrared reflectance spectroscopy (NIRS) on a FOSS Infratec NOVA analyzer (Hillerød, Denmark) following the PN EN ISO 12099:2017 standard [14]. Total protein, oil content, moisture, and bulk density were assessed. Additionally, raw seeds were analyzed for trypsin inhibitor activity (TIA) and protein solubility in water and potassium hydroxide (KOH-SP). All analyses were conducted in accredited laboratories, ensuring methodological reliability and data integrity.

##### 2.2.1. Processing of Soybean Seeds

The entire barothermal processing line, including optional oil pressing, is presented in Figure 2, with key physico-chemical changes summarized in Table 2. This continuous system ensured reproducible production of FFS and ESC under controlled time–temperature profiles.



**Figure 2.** Schematic representation of the continuous barothermal processing system for soybean seeds.

The technological process described in Table 2 represents a simplified flow of a continuous, steam-assisted processing line. The longest and most critical phase involves soybean exposure to barothermal conditions in a hydrothermal reactor. Our internal optimization trials demonstrated that thermolabile anti-nutritional compounds—especially trypsin inhibitors (TIA), used as an inactivation marker—are most effectively reduced during the steam saturation phase (13.3 min at 95–98 °C), where water and steam create a buffered thermal environment. While elevated temperatures are known to cause some degree of protein denaturation, the presence of moisture in this system plays a protective role, preventing overheating and structural degradation. Under these controlled conditions, we achieved maximum PDI (Protein Dispersibility Index) values while significantly reducing TIA. Furthermore, optional screw pressing of the expanded FFS fraction contributed to further TIA reduction, albeit at the cost of moderately lowered protein solubility (PDI). This balance between TIA inactivation and protein preservation was a key design objective of the barothermal process.

To reduce the oiliness of the final product, modifications were introduced after preliminary drying, directing the soy expandant to screw pressing, followed by further drying and structuring. The soybean processing described in this study was conducted on a pilot-scale industrial line operated by Agrolok Sp. z o.o. (Poland), a private-sector partner in the national Industrial PhD Program (“doktorat wdrożeniowy”), of which this publication is a direct outcome. The company collaborated on the design, execution, and technical validation of the ESC and FFS production processes.

**Table 2.** Processing stages, durations, and temperature conditions in the barothermal and press-assisted modification system for soy products.

Stage	Duration (min)	Temperature (°C)	Physico-Chemical Transformation
Crushing on roller mills	0.1	15–20	Particle size reduction (4–6 fragments per seed)
Aspiration with rotary sieve	0.7	15–20	Husk removal
Conditioning (water + steam)	0.3	80–85	Moisture increase and mixing
Steam buffering (saturation)	13.3	95–98	Inactivation of trypsin inhibitors
Pressure expansion	0.5	120–135	Gelatinization, cell rupture
Drying	16	120 → 60	Moisture reduction to ~10%
Optional screw pressing	1.5	~80–120	Fat removal <sup>#</sup>
Cooling	8.0	60 → 35	Protein stabilization, microbiological control
Mechanical structuring	0.2	35 → 30	Compaction and fraction uniformity

<sup>#</sup> Only applied in ESC production pathway.

### 2.2.2. Chemical Composition and Analytical Procedures

The analytical procedures for chemical composition, fatty acid profile, dietary fiber, and anti-nutritional factors were conducted as described in our previous work (Ambroziak & Wenda-Piesik, 2025) [15], using accredited laboratory protocols compliant with PN-EN ISO and AOAC standards. For detailed methods, instrumentation, and calibration procedures, see Ambroziak & Wenda-Piesik [15]. The following determinations were performed:

Crude Protein (CP): Kjeldahl method (PN-EN ISO 20483:2007).

Oil Content (OC): Soxhlet extraction (PN-EN ISO 734-1:2007).

Crude Fiber (CF): PN-EN ISO 6865.

Moisture and Ash: Gravimetric methods.

Fatty Acid Profile (SFA, MUFA, PUFA, n-3, n-6): PN-EN ISO 12966-1:2015 + AC:2015 + ISO 12966-2:2017.

Total and Digestible Carbohydrates: Subtraction method according to Regulation (EU) No 1169/2011 and EC No 152/2009.

Additional compounds:

Dietary Fiber (DF): AOAC 985.29.

Non-Starch Polysaccharides (NSP): GC per Englyst & Cummings, AOAC 994.13.

Klason Lignin (KL): AACC 32-25.

Uronic Acid (UA): Colorimetric method.

Raffinose Family Oligosaccharides (RFO): GC method.

Phytic Acid (PA): Haug & Lantzsch method.

Total Phenolic Content (TPC): Folin–Ciocalteu assay.

The barothermal-pressing system operated under carefully controlled conditions to ensure both microbial safety and nutrient preservation. During the steam-buffering and expansion phases, material was exposed to temperatures ranging from 95 to 135 °C, with transient internal pressure buildup reaching approximately 0.8–1.2 MPa. These thermal-pressure conditions were sufficient to inactivate anti-nutritional factors such as trypsin inhibitors while preserving the solubility and functional integrity of protein fractions. Additionally, the moderate residence time (~14 min cumulative) minimized nutrient

degradation and supported the retention of dietary fiber and polyunsaturated fatty acids. Post-expansion drying and optional pressing further concentrated the protein and fiber content, particularly in the ESC fraction. For detailed procedures and instrument calibration, see Ambroziak & Wenda-Piesik [15].

### 2.2.3. Storage Stability Assessment

FFS, ESC, and oil were stored for 1, 3, and 6 months under ambient, light-protected conditions. Evaluations included:

Lipid oxidation indices: Peroxide Value (PV), Anisidine Value (AV), Totox Index (2PV + AV).

Microbiological safety: Mesophilic Aerobic Microorganisms (MAM), Coliforms, Enterobacteriaceae, Staphylococcus aureus (CPS), Salmonella spp., yeasts, and molds.

All analyses followed PN-EN ISO standards.

### 2.3. Statistical Analysis

Data were tested for normal distribution (Shapiro–Wilk test). Square-root transformations were used where applicable. One-way or two-way ANOVA ( $p = 0.05$ ) was applied, followed by Tukey’s HSD post hoc test ( $p = 0.05$ ). Statistical analyses were performed using Statistica 13.1.

## 3. Results and Discussion

### 3.1. Agronomic Performance Under Semi-Organic and Conventional Systems

Soybeans cultivated under the P1 system consistently demonstrated higher plant height and pod number, likely due to enhanced vegetative development supported by mechanical weeding and optimal sowing timing (Table 3). These findings align with Karges et al. [8], who emphasized the need for aligning sowing date and cultivar maturity with regional photothermal conditions. In our study, the mechanical disturbance associated with rotary weeding may have promoted compensatory pod development, consistent with reports by Toleikiene et al. [16].

**Table 3.** Agronomic parameters (mean ± SE) for soybean cv. ‘Abaca’ cultivated from 2021 to 2024.

Year	Treatment	Post-Emergence Density (Plants Per m <sup>2</sup> )	Pre Harvest Density (Plants Per m <sup>2</sup> )	Number of Pods Per Plant	Plant Height at Maturity Stage (cm)	Seed Yield Converted to 13% Moisture (dt ha <sup>-1</sup> )	TSW (g)
2021	P1 <sup>z</sup>	55.10 ± 2.20 <sup>b,*</sup>	50.20 ± 2.00 <sup>a</sup>	29.90 ± 3.05 <sup>a</sup>	74.90 ± 11.30 <sup>a</sup>	30.20 ± 0.20 <sup>a</sup>	223.20 ± 5.12 <sup>a</sup>
	P2	62.30 ± 2.49 <sup>a</sup>	48.80 ± 1.96 <sup>a</sup>	31.00 ± 3.20 <sup>a</sup>	70.50 ± 12.02 <sup>b</sup>	28.60 ± 0.20 <sup>b</sup>	201.30 ± 5.40 <sup>b</sup>
2022	P1	49.60 ± 1.98 <sup>a</sup>	48.60 ± 1.94 <sup>a</sup>	30.30 ± 2.85 <sup>a</sup>	60.90 ± 8.80 <sup>a</sup>	21.20 ± 0.14 <sup>a</sup>	192.60 ± 4.80 <sup>a</sup>
	P2	50.20 ± 2.00 <sup>a</sup>	43.80 ± 1.75 <sup>b</sup>	27.10 ± 3.10 <sup>b</sup>	60.30 ± 7.60 <sup>a</sup>	20.40 ± 0.15 <sup>a</sup>	180.70 ± 4.30 <sup>b</sup>
2023	P1	52.40 ± 2.09 <sup>a</sup>	50.20 ± 2.00 <sup>a</sup>	30.50 ± 4.12 <sup>a</sup>	74.90 ± 7.19 <sup>a</sup>	30.40 ± 0.22 <sup>a</sup>	215.10 ± 4.80 <sup>a</sup>
	P2	53.60 ± 2.14 <sup>a</sup>	49.30 ± 1.97 <sup>a</sup>	30.60 ± 4.00 <sup>a</sup>	71.90 ± 8.30 <sup>b</sup>	27.20 ± 0.21 <sup>b</sup>	205.30 ± 4.60 <sup>b</sup>
2024	P1	58.20 ± 2.32 <sup>b</sup>	57.40 ± 2.30 <sup>a</sup>	36.50 ± 3.60 <sup>a</sup>	87.70 ± 12.40 <sup>a</sup>	35.60 ± 0.20 <sup>a</sup>	220.70 ± 5.30 <sup>a</sup>
	P2	62.40 ± 2.49 <sup>a</sup>	57.70 ± 2.30 <sup>a</sup>	34.40 ± 3.18 <sup>b</sup>	81.90 ± 13.10 <sup>b</sup>	33.40 ± 0.20 <sup>b</sup>	215.40 ± 5.10 <sup>a</sup>

<sup>z</sup> P1—post-emergence mechanical weeding with rotary harrow, P2—conventional herbicide-based weed control without mechanical weeding. \*—small superscript letters (a, b) indicate significant differences between P1 and P2 within each year according to Tukey’s HSD test ( $p = 0.05$ ). TSW—thousand seed weight.

Although P2 plots initially showed higher post-emergence plant density in certain years (2021, 2024), P1 maintained superior pre-harvest density and yield across most seasons. In 2022 and 2024, low rainfall in May (36.5 mm and 8.0 mm, respectively) and higher temperatures disrupted early development. This likely shortened the R1–R7 phase, limiting assimilate accumulation and pod filling. Conversely, cooler, wetter conditions in 2021 and 2023 supported prolonged phenological stages, aligning with higher yields, especially under the P1 cultivation system. The lowest yields were observed in 2022, coinciding with delayed sowing and drought during flowering. Drought and elevated temperatures negatively impact nodulation and biological nitrogen fixation [17,18]. Our results corroborate this, showing yield suppression during critical phenophases. Otherwise, year 2023 and 2024 showed yield recovery due to earlier sowing and better rainfall distribution [19,20]. Yield variability from 2021 to 2024 reflects strong climatic influences on soybean development. Setiyono et al. [20] emphasized temperature and daylength as key drivers of phenology, with elevated temperatures accelerating development and reducing yield potential if critical phases like flowering or seed filling are shortened. Matthews et al. [21] observed similar outcomes in temperate zones under fluctuating moisture regimes. In 2021 and 2024, the yield gap between P1 and P2 reached 1.5 to 2.0 dt/ha (Table 3). The use of mechanical weed control also contributed to higher thousand-seed weight (TSW), especially in dry years like 2024. The P1 system, combining mechanical weeding and increased sowing precision, effectively suppressed weed infestation without post-emergence herbicide use. This is in line with the findings of Tataridas et al., [10] and Winkler et al., [11] who supported mechanical solutions as glyphosate alternatives under EU Green Deal constraints. Advances in AI-powered weed detection offer future opportunities for automation of mechanical weeding [22].

### 3.2. Nutritional Composition of Soybean Seeds

The proximate composition of raw soybean seeds harvested from both agronomic systems during 2021–2024 is presented in Table 4.

**Table 4.** Composition (mean  $\pm$  SE) of raw soybean seeds (cv. ‘Abaca’) under two weed control systems from 2021 to 2024.

Year	Treatment	Crude Protein (%)	Oil Content (%)	Water (%)	Bulk Density (kg hL <sup>-1</sup> )	Admixture (%)
2021	P1 <sup>z</sup>	33.14 $\pm$ 1.12 <sup>a,*</sup>	18.97 $\pm$ 0.67 <sup>a</sup>	13.23 $\pm$ 0.42 <sup>a</sup>	69.70 $\pm$ 4.70 <sup>a</sup>	1.01 $\pm$ 0.02 <sup>a</sup>
	P2	33.32 $\pm$ 1.30 <sup>a</sup>	18.65 $\pm$ 0.72 <sup>a</sup>	13.37 $\pm$ 0.37 <sup>a</sup>	65.52 $\pm$ 5.10 <sup>b</sup>	0.66 $\pm$ 0.04 <sup>b</sup>
2022	P1	32.00 $\pm$ 0.96 <sup>a</sup>	20.11 $\pm$ 0.55 <sup>a</sup>	13.31 $\pm$ 0.34 <sup>a</sup>	69.85 $\pm$ 6.11 <sup>a</sup>	1.15 $\pm$ 0.04 <sup>a</sup>
	P2	32.64 $\pm$ 1.06 <sup>a</sup>	19.50 $\pm$ 0.60 <sup>a</sup>	13.05 $\pm$ 0.27 <sup>a</sup>	69.52 $\pm$ 5.80 <sup>a</sup>	1.12 $\pm$ 0.03 <sup>a</sup>
2023	P1	33.51 $\pm$ 1.07 <sup>a</sup>	19.28 $\pm$ 0.64 <sup>a</sup>	12.97 $\pm$ 0.30 <sup>a</sup>	70.86 $\pm$ 6.95 <sup>a</sup>	1.10 $\pm$ 0.02 <sup>a</sup>
	P2	34.12 $\pm$ 1.32 <sup>a</sup>	18.90 $\pm$ 0.69 <sup>a</sup>	12.60 $\pm$ 0.32 <sup>a</sup>	70.48 $\pm$ 7.14 <sup>a</sup>	1.13 $\pm$ 0.02 <sup>a</sup>
2024	P1	32.52 $\pm$ 1.14 <sup>a</sup>	20.02 $\pm$ 0.58 <sup>a</sup>	12.46 $\pm$ 0.33 <sup>a</sup>	71.13 $\pm$ 8.02 <sup>a</sup>	1.09 $\pm$ 0.04 <sup>a</sup>
	P2	32.53 $\pm$ 1.17 <sup>a</sup>	20.05 $\pm$ 0.62 <sup>a</sup>	11.78 $\pm$ 0.33 <sup>b</sup>	70.03 $\pm$ 7.80 <sup>a</sup>	1.06 $\pm$ 0.04 <sup>a</sup>

<sup>z</sup> P1—post-emergence mechanical weeding with rotary harrow, P2—conventional herbicide-based weed control without mechanical weeding. \*—small superscript letters (a, b) indicate significant differences between P1 and P2 within each year according to Tukey’s HSD test ( $p < 0.05$ ).

Crude protein (CP) levels remained relatively stable, ranging from 32.00% to 34.12%, with no statistically significant differences observed between the P1 (semi-organic) and P2 (conventional) treatments ( $p > 0.05$ ). These results are consistent with prior multi-site evaluations of non-GMO cultivars under Central Polish conditions, where the protein content for ‘Abaca’ ranged from 39.6% to 42.8% depending on seasonal hydrothermal

conditions [23]. In the present study, lower protein levels may reflect partial drought exposure during key vegetative phases, especially in 2022.

Oil content (CO) exhibited minor inter-annual variation, ranging from 18.65% to 20.11%. While oil levels tended to be slightly higher under P1 management in certain years (e.g., 2022 and 2024), differences were generally non-significant. These oil concentrations confirm the suitability of ‘Abaca’ for both full-fat soy processing and oil extraction, as also supported by prior cultivar screenings [23]. Interestingly, our earlier research highlighted that oil content in soybean can be sensitive to hydrothermal variability, with drier seasons sometimes yielding elevated oil concentrations due to altered seed filling dynamics.

Moisture content at harvest ranged from 11.78% to 13.37%, reflecting proper harvest timing and consistent post-harvest drying. A small but statistically significant moisture reduction was observed in P2 during 2024 ( $p < 0.05$ ), potentially linked to field microclimate variability and plant maturity differences.

Bulk density values ranged between 65.52 and 71.13 kg hL<sup>-1</sup>, with slightly higher values under P1 conditions, suggesting improved kernel development in mechanically weeded plots. Bulk density is an important indicator for storage stability and processing efficiency, with values above 68 kg hL<sup>-1</sup> generally meeting industrial processing standards [24,25].

Seed admixture content ranged from 0.66% to 1.15%. The slightly elevated admixture levels observed under P1 conditions may reflect minor mechanical seed coat damage induced by rotary hoeing and the absence of chemical desiccation prior to harvest [10]. Despite these differences, all admixture levels remained well within commercial acceptance limits for food-grade soybeans [26].

Taken together, these findings confirm that both cultivation systems maintained high compositional stability of soybean seeds. Importantly, the semi-organic P1 approach preserved seed quality while offering potential agroecological benefits, in line with EU Green Deal and Farm to Fork policy objectives. The convergence of results between the current experiment and our earlier field phenotyping study [23] reinforces the suitability of ‘Abaca’ as a robust cultivar for Central European non-GMO soybean production.

The chemical composition of the processed soy products, full-fat soy (FFS), and expanded soybean cake (ESC), obtained from the barothermal and press-assisted processing system, is summarized in Table 5. The pressing stage significantly altered the nutrient profile of the products, yielding two distinct matrices suitable for different food and feed applications.

**Table 5.** Nutritional composition (mean  $\pm$  SE) of full-fat soy (FFS) and expanded soybean cake (ESC) produced via barothermal processing, 2022–2024.

Characteristic	2022		2023		2024	
	FFS	ESC	FFS	ESC	FFS	ESC
Oil content (%)	20.79 $\pm$ 0.35 <sup>a,*</sup>	11.56 $\pm$ 0.56 <sup>b</sup>	21.35 $\pm$ 0.25 <sup>a</sup>	13.33 $\pm$ 0.51 <sup>b</sup>	22.40 $\pm$ 0.54 <sup>a</sup>	12.05 $\pm$ 0.25 <sup>b</sup>
Crude protein (%)	34.48 $\pm$ 0.58 <sup>b</sup>	38.98 $\pm$ 0.68 <sup>a</sup>	34.30 $\pm$ 0.90 <sup>b</sup>	37.57 $\pm$ 0.22 <sup>a</sup>	32.40 $\pm$ 0.67 <sup>b</sup>	37.40 $\pm$ 0.40 <sup>a</sup>
Ash (%)	4.82 $\pm$ 0.10 <sup>a</sup>	4.99 $\pm$ 0.11 <sup>a</sup>	5.05 $\pm$ 0.45 <sup>a</sup>	5.50 $\pm$ 0.13 <sup>a</sup>	5.10 $\pm$ 0.35 <sup>a</sup>	5.05 $\pm$ 0.15 <sup>a</sup>
Sugar (%)	9.23 $\pm$ 0.24 <sup>b</sup>	10.98 $\pm$ 0.15 <sup>a</sup>	8.75 $\pm$ 0.05 <sup>b</sup>	10.83 $\pm$ 0.23 <sup>a</sup>	7.80 $\pm$ 0.16 <sup>b</sup>	10.75 $\pm$ 0.25 <sup>a</sup>
Crude fiber (%)	5.57 $\pm$ 0.42 <sup>b</sup>	6.49 $\pm$ 0.11 <sup>a</sup>	5.65 $\pm$ 0.35 <sup>a</sup>	5.88 $\pm$ 0.28 <sup>a</sup>	5.40 $\pm$ 0.31 <sup>b</sup>	6.10 $\pm$ 0.50 <sup>a</sup>
Dietary fiber (%)	13.63 $\pm$ 1.36 <sup>b</sup>	16.19 $\pm$ 0.37 <sup>a</sup>	14.30 $\pm$ 0.30 <sup>b</sup>	15.84 $\pm$ 0.54 <sup>a</sup>	14.00 $\pm$ 0.65 <sup>b</sup>	16.30 $\pm$ 0.90 <sup>a</sup>
TOT Carb (%)	43.70 $\pm$ 1.08 <sup>a</sup>	31.48 $\pm$ 0.91 <sup>b</sup>	37.80 $\pm$ 0.20 <sup>a</sup>	31.64 $\pm$ 0.90 <sup>b</sup>	43.00 $\pm$ 0.67 <sup>a</sup>	31.10 $\pm$ 2.10 <sup>b</sup>
Dig Carb (%)	12.81 $\pm$ 0.25 <sup>b</sup>	22.84 $\pm$ 1.90 <sup>a</sup>	13.35 $\pm$ 0.25 <sup>b</sup>	19.03 $\pm$ 1.67 <sup>a</sup>	14.20 $\pm$ 0.23 <sup>b</sup>	19.35 $\pm$ 0.95 <sup>a</sup>
EV (kcal 100 g <sup>-1</sup> )	410.2 $\pm$ 5.41 <sup>a</sup>	379.4 $\pm$ 5.02 <sup>b</sup>	416.5 $\pm$ 13.50 <sup>a</sup>	380.5 $\pm$ 6.70 <sup>b</sup>	432.0 $\pm$ 9.04 <sup>a</sup>	389.5 $\pm$ 0.50 <sup>b</sup>
Water (%)	11.93 $\pm$ 0.42 <sup>a</sup>	12.13 $\pm$ 0.16 <sup>a</sup>	12.35 $\pm$ 0.05 <sup>a</sup>	10.70 $\pm$ 0.40 <sup>a</sup>	12.50 $\pm$ 0.05 <sup>a</sup>	10.20 $\pm$ 0.10 <sup>a</sup>

\*—small superscript letters (a, b) indicate significant differences between FFS—full-fat soya and ESC—expanded soybean cake within each year according to Tukey's HSD test ( $p < 0.05$ ). TOT Carb—total carbohydrates, Dig Carb—digestible carbohydrates, EV—energy value.

Crude protein (CP) content was significantly higher in ESC, ranging from 37.40% to 38.98%, compared to 32.40% to 34.48% in FFS ( $p < 0.05$ ). This increase reflects the protein concentration effect resulting from partial fat removal during the mechanical pressing stage. Similar protein concentration patterns have been reported in previous processing studies on plant-based protein concentrates [15,27].

Oil content (OC) was strongly reduced in ESC due to the press-assisted processing step, ranging from 11.56% to 13.33%, while FFS retained oil levels between 20.79% and 22.40% ( $p < 0.05$ ). The oil reduction in ESC supports its applicability for protein-rich formulations where excessive lipid content is undesirable, such as extruded protein snacks or feed pellets.

Total sugar content was moderately higher in ESC (10.75–10.98%) compared to FFS (7.80–9.23%). This may reflect partial concentration of water-soluble carbohydrates during oil extraction and post-expansion drying. Crude fiber (CF) content also increased slightly in ESC (5.88–6.49%) relative to FFS (5.40–5.65%), contributing to improved dietary fiber fractions.

Dietary fiber (DF) content reached 15.84–16.30% in ESC, significantly higher than the 13.63–14.30% observed in FFS. This increase may offer functional benefits for both feed digestibility and food applications targeting glycemic control and satiety [28,29].

Total carbohydrate (TOT Carb) content was consistently higher in FFS (37.80–43.70%), while ESC exhibited lower totals (31.10–31.64%), again reflecting compositional shifts following lipid extraction. Conversely, digestible carbohydrates (Dig Carb) were significantly elevated in ESC (19.03–22.84%) compared to FFS (12.81–14.20%), suggesting potential advantages for energy modulation in nutritional formulations. These findings are consistent with previous reports indicating that oil removal concentrates structural carbohydrates, enhancing dietary fiber content [27,29].

The calculated energy value (EV) decreased significantly in ESC, ranging from 379.4 to 389.5 kcal/100 g, while FFS provided higher caloric density (410.2–432.0 kcal/100 g), primarily due to the higher residual oil content. The elevated fiber content may support glycemic regulation, microbiota modulation, and stool bulk, which are relevant for both feed and functional food applications [30]. Soluble and insoluble fiber fractions in soy-based matrices can also influence viscosity and bile acid binding, contributing to cholesterol-lowering potential [31,32]. The inverse relationship between fiber and digestible carbohydrates aligns with energy-reduction goals in high-fiber diet formulations [33]. Furthermore, the fiber-rich nature of ESC may enhance satiety, as shown in studies with other plant-derived protein-fiber blends [28]. These nutritional differences between FFS and ESC highlight the technical flexibility of the barothermal-pressing system in producing tailored soy ingredients with distinct compositional profiles. ESC offers particular advantages as a clean-label, high-protein, fiber-enriched product suitable for multiple functional food and specialized feed applications. Szulc et al. [34] and Schulp et al. [35] emphasized that regionally integrated production, processing, and consumption systems are essential for sustainable transitions. The dual-product approach using FFS and ESC illustrates the circular valorization of protein, oil, and fiber streams [34]. Environmental stressors, as noted by Szulc [34] and Hou et al. [36], can alter biomass allocation, contributing to observed yield variation. Ordoñez et al. [37] further demonstrated that shoot carbon-to-nitrogen ratios respond to soil fertility gradients and climatic drivers, influencing aboveground resource partitioning. Their findings suggest that stoichiometric flexibility in soybean may underlie adaptive strategies to environmental heterogeneity. Finally,

breeding programs must continue integrating traits for stability and nutritional value [38]. Water content remained stable across processing years and treatments, ranging from 10.20% to 12.50%, indicating good process control and standardization.

### 3.3. Processing Outcomes and Product Differentiation (FFS vs. ESC)

The comparative assessment with commercial reference products (defatted soybean meal, soybean cake, and raw soybeans; Table 6) demonstrates that ESC achieves a balanced profile with superior protein concentration, enhanced protein solubility, moderate anti-nutritional load, and elevated dietary fiber content. Such characteristics highlight ESC as a promising clean-label ingredient for both functional foods and high-protein feed formulations, especially where controlled oil content and digestibility optimization are desired. The elevated dietary fiber content of ESC (15.8–16.3%) has practical relevance for both food and feed applications. In human nutrition, this level of fiber supports gut microbiota modulation, glycemic control, and increased satiety, making ESC particularly suitable for functional foods aligned with clean-label and high-fiber dietary trends. In animal feed, it may improve digestive health and nutrient utilization, especially in monogastric species. Moreover, the protein concentration in ESC (37.4–39.0%) exceeds that of conventional soybean cake (typically 30–35%), offering enhanced nutritional value and formulation efficiency in high-protein diets. This composition positions ESC as a superior alternative in the development of plant-based, protein-enriched, or hybrid protein products, responding to both sustainability goals and evolving consumer demands.

**Table 6.** Comparison of nutritional and anti-nutritional parameters of FFS and ESC versus commercial reference soy products.

Compound	Product				
	FFS	ESC	DSMB <sup>x</sup>	SC <sup>y</sup>	RS <sup>z</sup>
CO (%)	21.51 ± 0.28 <sup>d,*</sup>	12.31 ± 0.27 <sup>c</sup>	1.78 ± 0.10 <sup>a</sup>	6.10 ± 0.10 <sup>b</sup>	20.68 ± 0.49 <sup>d</sup>
CP (%)	33.73 ± 0.44 <sup>a</sup>	37.98 ± 0.29 <sup>a,b</sup>	45.28 ± 1.44 <sup>b</sup>	42.05 ± 0.05 <sup>a,b</sup>	34.28 ± 0.64 <sup>a</sup>
Ash (%)	4.99 ± 0.10 <sup>a</sup>	5.18 ± 0.06 <sup>a,b</sup>	6.30 ± 0.13 <sup>b</sup>	5.95 ± 0.05 <sup>b</sup>	4.24 ± 0.08 <sup>a</sup>
CF (%)	5.54 ± 0.24 <sup>b</sup>	6.16 ± 0.12 <sup>c</sup>	4.20 ± 0.05 <sup>a</sup>	6.50 ± 0.05 <sup>c</sup>	5.58 ± 0.19 <sup>b</sup>
PDI (%)	35.01 ± 3.09 <sup>c</sup>	26.46 ± 2.34 <sup>b</sup>	14.31 ± 1.31 <sup>a</sup>	18.20 ± 0.05 <sup>a</sup>	85.30 ± 2.10 <sup>d</sup>
KOH-SP (% CP)	80.79 ± 4.11 <sup>a</sup>	90.98 ± 1.54 <sup>b</sup>	94.30 ± 1.58 <sup>b</sup>	78.20 ± 0.10 <sup>a</sup>	96.00 ± 0.00 <sup>b</sup>
DM (%)	87.74 ± 0.24 <sup>a</sup>	88.99 ± 0.20 <sup>a</sup>	88.53 ± 0.33 <sup>a</sup>	87.80 ± 0.50 <sup>a</sup>	88.24 ± 0.34 <sup>a</sup>
TIA (mg/g)	2.86 ± 0.17 <sup>a</sup>	3.33 ± 0.38 <sup>a</sup>	2.15 ± 0.38 <sup>a</sup>	8.60 ± 0.05 <sup>b</sup>	19.48 ± 0.29 <sup>c</sup>

<sup>x</sup>—defatted soybean meal, <sup>y</sup>—soybean cake, <sup>z</sup>—raw soybean seeds. CO—crude oil, CP—crude protein, CF—crude fiber, PDI—Protein Dispersibility Index, KOH-SP—soluble protein in potassium hydroxide, DM—dry mass, TIA—trypsin inhibitor activity. \*—small superscript letters (a, b, c) indicate significant differences between products within each parameter according to Tukey's HSD test ( $p < 0.05$ ).

The barothermal-pressing process effectively reduced key anti-nutritional factors and improved protein digestibility in both full-fat soy (FFS) and expanded soybean cake (ESC). The trypsin inhibitor activity (TIA) was significantly lowered from 19.48 mg/g in raw soybeans to 2.86 mg/g in FFS and 3.33 mg/g in ESC (Table 6), fully complying with recommended safety thresholds for animal feed and human consumption [39–41].

Protein functionality parameters showed favorable modifications upon processing. The protein solubility in potassium hydroxide (KOH-SP) improved markedly in ESC, reaching 90.98% of crude protein compared to 80.79% in FFS ( $p < 0.05$ ), indicating higher extractability of functional protein fractions after oil removal. Protein dispersibility index (PDI) values followed the opposite trend, with slightly lower values for ESC (26.46%) relative to FFS (35.01%), reflecting the thermal aggregation of certain protein fractions during

pressure-expansion. Nonetheless, both values remain within acceptable ranges for most functional food and feed applications (Table 6).

Thermal-pressure treatment reduced TIA to 2.86 mg/g FFS and 3.33 mg/g ESC compared to raw soy 19.48 mg/g (Table 6), within safe feed limits [40,41]. Similarly, Bales and Lock [39] confirmed the benefit of heat treatment for deactivating trypsin inhibitors. Our products also showed reduced phytic acid (~0.25%) and RFO (~4%) relative to raw soy [42]. While RFOs support microbiota [43], their presence in feed may limit use for monogastric animals. Authors recommend further processing (fermentation, enzymatic treatment) to improve bioavailability [38,44].

#### 3.4. Functional and Anti-Nutritional Properties of Soy Products

Total non-starch polysaccharides (T-NSPs), representing the indigestible carbohydrate fraction, were significantly enriched in ESC, ranging from 12.43% to 12.90%, compared to 10.34–10.89% in FFS ( $p < 0.05$ ) (Table 7).

**Table 7.** Anti-nutritional and dietary fiber components (% dry matter) in FFS and ESC, 2022–2024.

Compound Content (% Dry Matter)	2022		2023		2024	
	FFS	ESC	FFS	ESC	FFS	ESC
CP	36.12 ± 0.39 <sup>b,*</sup>	41.99 ± 0.25 <sup>a</sup>	36.10 ± 0.95 <sup>b</sup>	39.82 ± 0.24 <sup>a</sup>	34.16 ± 0.71 <sup>b</sup>	39.42 ± 0.43 <sup>a</sup>
CO	24.13 ± 0.04 <sup>a</sup>	14.78 ± 0.05 <sup>b</sup>	24.90 ± 0.30 <sup>a</sup>	16.77 ± 0.64 <sup>b</sup>	26.16 ± 0.63 <sup>a</sup>	15.07 ± 0.31 <sup>b</sup>
Ash	6.31 ± 0.00 <sup>a</sup>	6.24 ± 0.00 <sup>a</sup>	6.64 ± 0.59 <sup>b</sup>	6.77 ± 0.16 <sup>a</sup>	6.73 ± 0.46 <sup>a</sup>	6.17 ± 0.19 <sup>b</sup>
T-NSP	10.34 ± 0.01 <sup>b</sup>	12.90 ± 0.08 <sup>a</sup>	10.89 ± 0.01 <sup>b</sup>	12.43 ± 0.08 <sup>a</sup>	10.69 ± 0.01 <sup>b</sup>	12.71 ± 0.08 <sup>a</sup>
UA	2.53 ± 0.01 <sup>a</sup>	2.52 ± 0.04 <sup>a</sup>	2.67 ± 0.01 <sup>a</sup>	2.43 ± 0.04 <sup>b</sup>	2.61 ± 0.01 <sup>a</sup>	2.48 ± 0.04 <sup>b</sup>
KL	1.20 ± 0.01 <sup>a</sup>	1.33 ± 0.03 <sup>a</sup>	1.26 ± 0.01 <sup>a</sup>	1.28 ± 0.02 <sup>a</sup>	1.24 ± 0.01 <sup>b</sup>	1.31 ± 0.02 <sup>a</sup>
RFO	3.93 ± 0.04 <sup>a</sup>	4.11 ± 0.03 <sup>a</sup>	4.14 ± 0.04 <sup>a</sup>	3.96 ± 0.04 <sup>b</sup>	4.06 ± 0.03 <sup>a</sup>	4.05 ± 0.04 <sup>b</sup>
DF	17.98 ± 0.00 <sup>b</sup>	20.99 ± 0.00 <sup>a</sup>	18.94 ± 0.39 <sup>b</sup>	20.22 ± 0.68 <sup>a</sup>	18.58 ± 0.86 <sup>b</sup>	20.68 ± 1.14 <sup>a</sup>
PA	1.40 ± 0.01 <sup>a</sup>	1.43 ± 0.01 <sup>a</sup>	1.47 ± 0.01 <sup>a</sup>	1.38 ± 0.01 <sup>b</sup>	1.45 ± 0.01 <sup>a</sup>	1.41 ± 0.01 <sup>b</sup>
TPC	2.49 ± 0.03 <sup>a</sup>	2.43 ± 0.02 <sup>a</sup>	2.62 ± 0.03 <sup>a</sup>	2.34 ± 0.02 <sup>b</sup>	2.57 ± 0.03 <sup>a</sup>	2.39 ± 0.03 <sup>b</sup>

\*—small superscript letters (a, b) indicate significant differences between FFS and ESC within each year according to Tukey's HSD test ( $p < 0.05$ ). T-NSP—total non-starch polysaccharides, UA—uronic acid, KL—Klason lignin, RFO—raffinose family oligosaccharides, DF—dietary fiber, PA—phytic acid, TPC—total phenolic content.

This increase correlates with enhanced fiber concentration after oil extraction. Dietary fiber (DF) content also increased in ESC (20.22–20.99%) relative to FFS (17.98–18.94%), offering potential prebiotic and satiety-enhancing properties for specialized formulations [28,43].

Raffinose family oligosaccharides (RFO), commonly associated with flatulence in monogastric animals, remained relatively stable across processing and storage, with values ranging from 3.93% to 4.14% in FFS and 3.96% to 4.11% in ESC. While moderate RFO content may offer prebiotic benefits by modulating gut microbiota [41], further enzymatic or fermentative processing could optimize its application in monogastric nutrition [29,31].

Phytic acid (PA) levels remained between 1.38% and 1.47% across all samples, with ESC showing slightly lower values than FFS ( $p < 0.05$ ). These concentrations are consistent with previously reported values for thermally treated soy products and fall within acceptable nutritional limits [39]. Nevertheless, phytic acid reduction strategies may further improve mineral bioavailability in target formulations.

Total phenolic content (TPC), measured as gallic acid equivalents (GAE), ranged from 2.34 to 2.62 mg GAE/g dry matter, showing minor differences between products and

years (Table 7). The preservation of these bioactive compounds supports the antioxidant potential of both FFS and ESC in functional applications.

### 3.5. Fatty Acid Profile and Lipid Composition

The fatty acid (FA) composition of both full-fat soy (FFS) and expanded soybean cake (ESC) was analyzed across a 6-month storage period (Table 8). The processing stages and subsequent oil removal significantly altered the FA profiles between the two products, while temporal storage effects remained limited.

**Table 8.** Fatty acid composition (% total FA) of FFS and ESC during 1–6 months of storage.

Heat Treatment Method	Storage Duration (Months)	SFA (%)	MUFA (%)	PUFA (%)	n-3 (%)	n-6 (%)
FFS	1	34.55 ± 0.01 <sup>a</sup>	23.85 ± 0.46 <sup>a</sup>	65.25 ± 0.79 <sup>a</sup>	7.60 ± 0.23 <sup>a</sup>	49.30 ± 1.49 <sup>a</sup>
	3	34.40 ± 0.40 <sup>a</sup>	22.40 ± 0.60 <sup>a</sup>	64.00 ± 1.00 <sup>a</sup>	8.00 ± 0.40 <sup>a</sup>	52.60 ± 2.40 <sup>a</sup>
	6	33.70 ± 0.00 <sup>a</sup>	24.20 ± 0.00 <sup>a</sup>	62.30 ± 0.00 <sup>a</sup>	6.60 ± 0.00 <sup>a</sup>	47.00 ± 0.00 <sup>a</sup>
ESC	1	15.88 ± 0.74 <sup>c</sup>	22.93 ± 1.77 <sup>b</sup>	69.58 ± 5.14 <sup>b</sup>	7.93 ± 0.77 <sup>b</sup>	57.44 ± 4.90 <sup>b</sup>
	3	18.60 ± 1.83 <sup>b</sup>	23.18 ± 2.22 <sup>b</sup>	70.75 ± 6.23 <sup>b</sup>	8.83 ± 0.96 <sup>b</sup>	58.58 ± 6.20 <sup>b</sup>
	6	22.00 ± 0.00 <sup>a</sup>	28.00 ± 0.00 <sup>a</sup>	86.00 ± 1.00 <sup>a</sup>	11.00 ± 0.00 <sup>a</sup>	75.00 ± 1.00 <sup>a</sup>

\*—small superscript letters (a, b, c) indicate significant differences between months within FFS and ESC according to Tukey's HSD test ( $p < 0.05$ ). SFA—saturated fatty acids, MUFA—monounsaturated fatty acids, PUFA—polyunsaturated fatty acids, n-3—omega3, n-6—omega6.

Saturated fatty acids (SFA) were substantially lower in ESC compared to FFS. In FFS, SFA content ranged from 33.70% to 34.55% across storage time, while in ESC, values increased slightly from 15.88% at one month to 22.00% after six months. The consistently lower SFA fraction in ESC enhances its lipid quality profile, in alignment with nutritional recommendations favoring lower saturated fat intake [45].

Polyunsaturated fatty acids (PUFAs) represented the dominant lipid fraction in both products. ESC exhibited particularly favorable PUFA levels, ranging from 69.58% to 86.00%, whereas FFS contained PUFA from 62.30% to 65.25%. The PUFA/SFA ratio exceeded 2.5 in ESC throughout storage, which is well above the FAO/WHO minimum recommendation of 0.45 for cardiovascular health benefits [45].

The n-3 (omega-3) fatty acid fraction remained stable in both products but was slightly higher in ESC (7.93–11.00%) than in FFS (6.60–8.00%). Nonetheless, the n-6/n-3 ratio averaged 6.8:1 across both matrices, remaining above optimal nutritional targets. This indicates potential for further improvement via blending with omega-3 rich oils such as flaxseed, chia, or canola to better align with dietary recommendations [46,47].

The processing-induced lipid modifications observed in ESC are consistent with prior reports highlighting the impact of partial oil removal and thermal expansion on fatty acid partitioning within the protein-fiber matrix [27]. The relative enrichment of PUFA in ESC suggests potential applications in functional foods targeting anti-inflammatory and cardio-protective formulations, while its moderate residual lipid content supports favorable textural and sensory attributes in high-protein products.

Overall, both FFS and ESC demonstrated high oxidative stability of their lipid fractions across the 6-month storage period, with no substantial degradation or unfavorable shifts in fatty acid composition.

### 3.6. Oxidative Stability and Microbiological Safety During Storage

The oxidative stability of both full-fat soy (FFS) and expanded soybean cake (ESC) was monitored over a 6-month storage period under ambient, light-protected conditions

(Table 9). ESC consistently demonstrated superior oxidative stability compared to FFS throughout storage.

**Table 9.** Oxidative stability parameters of full-fat soy (FFS), expanded soybean cake (ESC), and extracted soybean oil during 6-month storage.

Characteristic	FFS			ESC			Oil		
	1	3	6	1	3	6	1	3	6
AV (mg g <sup>-1</sup> KOH)	2.03 ± 0.01 <sup>ab*</sup>	3.10 ± 0.02 <sup>b</sup>	4.40 ± 0.03 <sup>c</sup>	1.37 ± 0.01 <sup>a</sup>	1.83 ± 0.01 <sup>a</sup>	3.25 ± 0.02 <sup>b</sup>	0.64 ± 0.00 <sup>a</sup>	2.10 ± 0.01 <sup>a</sup>	13.8 ± 0.90 <sup>b</sup>
FFA (%)	1.33 ± 0.01 <sup>a</sup>	2.67 ± 0.02 <sup>b</sup>	3.46 ± 0.02 <sup>c</sup>	0.89 ± 0.01 <sup>a</sup>	1.48 ± 0.01 <sup>b</sup>	2.01 ± 0.01 <sup>c</sup>	0.95 ± 0.01 <sup>a</sup>	1.15 ± 0.01 <sup>ab</sup>	1.50 ± 0.01 <sup>b</sup>
PV (meq O <sub>2</sub> kg <sup>-1</sup> )	2.62 ± 0.02 <sup>ab</sup>	3.25 ± 0.02 <sup>b</sup>	5.70 ± 0.04 <sup>c</sup>	1.13 ± 0.01 <sup>a</sup>	1.48 ± 0.01 <sup>a</sup>	2.15 ± 0.01 <sup>ab</sup>	4.20 ± 0.03 <sup>a</sup>	4.50 ± 0.03 <sup>a</sup>	4.80 ± 0.03 <sup>a</sup>
ANV	0.61 ± 0.00 <sup>a</sup>	0.95 ± 0.01 <sup>ab</sup>	1.30 ± 0.01 <sup>b</sup>	0.38 ± 0.00 <sup>a</sup>	1.30 ± 0.01 <sup>b</sup>	3.61 ± 0.02 <sup>c</sup>	0.40 ± 0.00 <sup>a</sup>	0.60 ± 0.00 <sup>a</sup>	0.90 ± 0.01 <sup>a</sup>
Totox index	5.84 ± 0.04 <sup>ab</sup>	7.45 ± 0.05 <sup>ab</sup>	12.7 ± 0.8 <sup>b</sup>	2.65 ± 0.02 <sup>a</sup>	4.25 ± 0.03 <sup>a</sup>	7.91 ± 0.05 <sup>ab</sup>	8.80 ± 0.06 <sup>a</sup>	9.60 ± 0.06 <sup>a</sup>	10.5 ± 0.07 <sup>a</sup>

\*—small superscript letters (a, b, c) indicate significant differences between storage months for FFS, ESC, and oil, according to Tukey's HSD test ( $p < 0.05$ ). AV—acid value, FFA—free fatty acids, PV—peroxide value, ANV—anisidine value.

In FFS, Totox index values progressively increased from 5.84 at month 1 to 12.70 after 6 months, indicating gradual lipid oxidation during storage. In contrast, ESC maintained low Totox values, ranging from 2.65 to 7.91, even after 6 months, confirming the stabilizing effect of partial fat removal. These results align with previous findings that reduced lipid content enhances oxidative stability in soy-based products [48,49].

Peroxide value (PV), anisidine value (ANV), and acid value (AV) followed similar trends, with ESC consistently showing lower values compared to FFS ( $p < 0.05$ ). The reduction of free fatty acids (FFA) during processing further contributed to ESC's superior oxidative performance.

Soybean oil extracted during ESC production exhibited moderate oxidative stability. While Totox values remained acceptable up to 3 months (8.80–9.60), they increased to 10.5 by month 6, suggesting limited storage stability without antioxidant supplementation. These results underscore the need for additional stabilization strategies for isolated soybean oil if extended shelf-life is required.

Microbiological quality remained within safe limits across all samples and storage periods (Table 10). Total mesophilic aerobic microorganisms (MAMs) remained below 1000 cfu/g in ESC at all timepoints. In FFS, MAM levels slightly increased after 6 months (1624 cfu/g) but stayed within acceptable food safety standards. Coliforms, Enterobacteriaceae, Staphylococcus aureus (CPS), yeasts and molds (Y&M), and Salmonella spp. were not detected in any sample throughout storage, confirming effective microbiological safety of both products.

**Table 10.** Microbiological counts (cfu g<sup>-1</sup>) in FFS and ESC during storage for 1–6 months.

Soy Product	Month	MAM at 30 °C	Coli	Y & M	Enterobacteriaceae	CPS	Salmonella
FFS	1	<100	<10	<10	<10	<10	nd <sup>1</sup>
	3	129	<10	<100	<10	<10	nd
	6	1624	<100	113	<10	<10	nd
ESC	1	<100	<10	<10	<10	<10	nd
	3	<100	<10	<100	<10	<10	nd
	6	1000	<10	<100	<10	<10	nd

<sup>1</sup>—not detected. MAMs—mesophilic aerobic microorganisms, Y&M—yeast and molds, CPS—Staphylococcus aureus.

The combination of high oxidative stability, controlled microbial quality, and stable lipid profile confirms the suitability of ESC for prolonged storage and extended distribution chains. These properties are particularly relevant for both feed and functional food sectors, where product stability under varying storage conditions is a critical requirement.

Additionally, the mild thermal conditions used during processing may contribute not only to oxidative stability but also to the reduction of allergenic protein isoforms, as previously reported for thermally processed soy products [50].

### 3.7. Integration into Circular Protein Systems

The soy-based products presented in this study—expanded soybean cake (ESC) and full-fat soy (FFS)—are derived from locally grown European soybeans, free from the environmental burdens associated with transatlantic transport. Our internal carbon footprint analysis of raw soybeans from field trials revealed a low emission level of 89 kg CO<sub>2</sub> eq per ton of dry soybean matter. Moreover, the processing approach described here utilizes exclusively physical methods, such as mechanical treatment and steam conditioning, without the use of chemical solvents (e.g., hexane). The production of both FFS and ESC follows a zero-waste principle, as no by-products are generated. An additional systemic issue identified by the authors and an industrial partner is the lack of industrial-scale processing aimed at protein quality rather than maximum oil yield. In this context, protein should be prioritized as the main product, while oil should be considered a secondary fraction—reversing the conventional paradigm in soybean processing. The compositional and functional properties of expanded soybean cake (ESC) position it as a versatile ingredient for multiple food and feed applications. With a protein content ranging from 37.40% to 38.98%, ESC aligns with current formulation standards for high-protein extruded foods, nutritional supplements, and meat analogs. The moderate residual oil content (11.56–13.33%) provides favorable textural and sensory attributes, contributing to improved palatability and processing behavior, particularly in clean-label product development.

The digestibility profile and reduced anti-nutritional factors (low trypsin inhibitor activity and phytic acid levels) make ESC highly suitable for age-specific functional foods, including formulations targeting elderly populations, sports nutrition, and clinical nutrition [28,51]. Additionally, the elevated dietary fiber content (15.84–16.30%) supports glycemic regulation, promotes satiety, and contributes to favorable gut microbiota modulation [29,31,43].

The clean-label profile of ESC—free from synthetic binders or emulsifiers—addresses the growing consumer demand for minimally processed, transparent ingredients [52]. Its functional composition also facilitates the development of hybrid protein products that combine plant and dairy protein fractions to achieve optimal textural and nutritional balance [53].

ESC exhibits favorable rheological behavior during extrusion and thermal processing due to its unique matrix composition, which combines residual lipids, proteins, and fibers. The porous structure and partial oil retention enhance expansion properties, fiber integrity, and emulsification capacity, making ESC highly suitable for extruded snacks, protein-enriched bakery products, ready-to-drink beverages, and savory applications [54–56].

Furthermore, the presence of residual lipids improves lubrication during extrusion, reducing mechanical torque and energy consumption, while enhancing product uniformity and stability [57]. This processing efficiency adds economic value in industrial applications and supports the scalability of ESC-based formulations.

Collectively, the nutritional, functional, and technological characteristics of ESC position it as a promising ingredient for innovative plant-based protein systems aligned with current health, sustainability, and consumer trends.

The dual-product model developed in this study, yielding both expanded soybean cake (ESC) and soybean oil from non-GMO soybeans, exemplifies a circular processing approach that maximizes the valorization of local agricultural resources. By integrating both agronomic and bioprocessing innovations, the model addresses multiple strategic challenges facing European protein self-sufficiency, particularly under the EU Green Deal and Farm to Fork frameworks [34,35].

The ability to stabilize nutritional quality across variable growing seasons demonstrates that the combination of semi-organic cultivation (P1 system) with controlled barothermal processing can deliver protein-rich soy products that are resilient to climatic fluctuations. This resilience is especially relevant for Central and Eastern European regions where drought episodes and photothermal variability are becoming more frequent due to climate change [36,37].

The circularity of the model is further reinforced by its efficient partitioning of protein, oil, and fiber fractions without generating significant processing waste. ESC offers a high-protein, fiber-enriched matrix suitable for both food and feed chains, while the co-produced oil can be utilized in culinary applications, animal feed formulations, or bio-based industries, depending on market demands.

Moreover, the integration of such systems into regional supply chains reduces reliance on imported genetically modified soybean meals, supports local economies, and enhances traceability and food sovereignty. This aligns with growing consumer preferences for non-GMO, locally sourced, and sustainably produced plant proteins. ESC consistently demonstrated superior oxidative stability during storage compared to FFS. This can be attributed to two main factors: (i) the reduced residual lipid content, which limits the availability of substrates for lipid peroxidation, and (ii) the retention of natural antioxidants, such as phenolic compounds, during mild barothermal treatment. Together, these characteristics significantly mitigate oxidation and extend shelf-life, particularly under ambient conditions without synthetic stabilizers.

At the breeding level, the observed inter-annual variability in yield and composition also highlights the continuing need to select and develop soybean genotypes optimized for Central European agro-climatic conditions, with traits for both agronomic performance and compositional stability [23,38].

Collectively, the proposed circular processing platform provides a scalable and environmentally aligned alternative to conventional soybean supply chains, bridging primary production, functional processing, and health-oriented food innovation. Its implementation offers both economic and ecological benefits, contributing to resilient protein systems capable of addressing future global protein challenges.

The compositional and functional attributes of ESC—particularly its clean-label profile, high protein and fiber content, and oxidative stability—make it well-suited for scalable integration into sustainable food and feed chains. These characteristics directly support EU policy objectives for protein self-sufficiency, reduced reliance on GMO imports, and circular bioeconomy models under the Green Deal and Farm to Fork frameworks. ESC also aligns with growing industry demand for functional, plant-based ingredients that enable innovation in meat analogs, sports nutrition, and therapeutic formulations.

However, this study has certain limitations. The field trials were conducted using a single soybean cultivar ('Abaca'), which may limit the generalizability of agronomic and compositional findings. Future studies should assess multiple genotypes under diverse agro-climatic conditions to validate the robustness and scalability of the proposed dual-product processing model.

## 4. Conclusions

This study confirms the technical, nutritional, and functional viability of producing two complementary soy-based ingredients—full-fat soy (FFS) and expanded soybean cake (ESC)—using a continuous, barothermal-pressing process specifically adapted for Central European agro-climatic conditions. The application of the P1 cultivation system, integrating mechanical weed control and optimized agronomic management, supported stable yields, improved plant performance, and consistent seed composition across variable weather conditions.

ESC showed distinct nutritional benefits, characterized by increased protein levels, decreased lipid content, and a higher dietary fiber fraction, and lowered anti-nutritional factors such as trypsin inhibitors and phytic acid. Its favorable oxidative stability and microbiological safety over a 6-month storage period further enhance its suitability for both food and feed applications. These attributes position ESC as a promising ingredient for clean-label, high-protein formulations, including extruded snacks, functional foods, and hybrid protein products.

From an agroecological perspective, the semi-organic P1 model offers a scalable, glyphosate-free alternative to conventional soybean cultivation, supporting EU Green Deal objectives for sustainable agriculture and regional protein self-sufficiency. The circular processing platform developed herein enables efficient partitioning of protein, lipid, and fiber fractions, contributing to resource-efficient and economically viable local supply chains.

Future research should focus on further valorization pathways for ESC in specialized food sectors, optimization of fatty acid profiles via oil blending to enhance omega-3 content, and comprehensive techno-economic assessments of full-scale implementation across diverse European agro-climatic zones.

## 5. Patents

[P] A. Wenda-Piesik., K. Ambroziak. ‘Method of producing protein-energy products based on oil seeds derived from soybean and hemp seeds’. The application was numbered: P.450940.

**Author Contributions:** Conceptualization, K.A. and A.W.-P.; methodology, K.A.; validation, K.A. and A.W.-P.; formal analysis, K.A. and A.W.-P.; investigation, K.A.; writing—original draft preparation, K.A. and A.W.-P.; writing—review and editing, A.W.-P.; project administration, A.W.-P.; funding acquisition, A.W.-P. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

**Funding:** This research was financed by the Ministry of Science and Higher Education of the Republic of Poland, under the Implementation Doctorate Grant DWD/5/0047/2021.

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

**Informed Consent Statement:** Not applicable.

**Data Availability Statement:** The data presented in this study are available on request from the corresponding author. The data are not publicly available due to institutional confidentiality and ongoing patent applications related to the developed bioprocessing system and product formulations.

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

## References

- Rotundo, J.L.; Marshall, R.; McCormick, R.; Truong, S.K.; Styles, D.; Gerde, J.A.; Gonzalez-Escobar, E.; Carmo-Silva, E.; Janes-Bassett, V.; Logue, J.; et al. European Soybean to Benefit People and the Environment. *Sci. Rep.* **2024**, *14*, 7612. <https://doi.org/10.1038/s41598-024-57522-z>.
- Feed Protein: Overview of EU Production and Options to Diversify Sources. Available online: [https://agriculture.ec.europa.eu/media/news/feed-protein-overview-eu-production-and-options-diversify-sources-2024-05-24\\_en?pre-flang=pl&ettrans=pl](https://agriculture.ec.europa.eu/media/news/feed-protein-overview-eu-production-and-options-diversify-sources-2024-05-24_en?pre-flang=pl&ettrans=pl) (accessed on 25 May 2025).
- Debaeke, P.; Forslund, A.; Guyomard, H.; Schmitt, B.; Tibi, A. Could Domestic Soybean Production Avoid Europe's Protein Imports in 2050? *OCL* **2022**, *29*, 38. <https://doi.org/10.1051/ocl/2022031>.
- European Parliament; Directorate General for Internal Policies of the Union; Areté; S&P Global Commodity Insights; Natural Resources Institute Finland. *The Dependency of the EU's Food System on Inputs and Their Sources*; Publications Office: Luxembourg, 2024.
- Vugt, T.; Nadeu, E. European Protein Diversification: Growing Opportunities for Farmers, 2025. Available online: <https://ieep.eu/wp-content/uploads/2025/03/European-Protein-Diversification-Growing-opportunities-for-farmers-IEEP-2025.pdf> (accessed on 9 July 2025).
- Islam, M.S.; Muhyidiyn, I.; Islam, M.R.; Hasan, M.K.; Hafeez, A.G.; Hosen, M.M.; Saneoka, H.; Ueda, A.; Liu, L.; Naz, M.; et al. Soybean and Sustainable Agriculture for Food Security. In *Soybean—Recent Advances in Research and Applications*; Ohyama, T., Takahashi, Y., Ohtake, N., Sato, T., Tanabata, S., Eds.; IntechOpen: London, UK, 2022. <https://doi.org/10.5772/intechopen.104129>.
- Purnhagen, K.P.; Clemens, S.; Eriksson, D.; Fresco, L.O.; Tosun, J.; Qaim, M.; Visser, R.G.F.; Weber, A.P.M.; Wesseler, J.H.H.; Zilberman, D. Europe's Farm to Fork Strategy and Its Commitment to Biotechnology and Organic Farming: Conflicting or Complementary Goals? *Trends Plant Sci.* **2021**, *26*, 600–606. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2021.03.012>.
- Karges, K.; Bellingrath-Kimura, S.D.; Watson, C.A.; Stoddard, F.L.; Halwani, M.; Reckling, M. Agro-Economic Prospects for Expanding Soybean Production beyond Its Current Northerly Limit in Europe. *Eur. J. Agron.* **2022**, *133*, 126415. <https://doi.org/10.1016/j.eja.2021.126415>.
- Klaiss, M.; Schmid, N.; Betrix, C.-A.; Baux, A.; Charles, R.; Messmer, M.M. Organic Soybean Production in Switzerland. *OCL* **2020**, *27*, 64. <https://doi.org/10.1051/ocl/2020059>.
- Tataridas, A.; Kanatas, P.; Chatzigeorgiou, A.; Zannopoulos, S.; Travlos, I. Sustainable Crop and Weed Management in the Era of the EU Green Deal: A Survival Guide. *Agronomy* **2022**, *12*, 589. <https://doi.org/10.3390/agronomy12030589>.
- Winkler, J.; Dvořák, J.; Hosa, J.; Martínez Barroso, P.; Vaverková, M.D. Impact of Conservation Tillage Technologies on the Biological Relevance of Weeds. *Land* **2022**, *12*, 121. <https://doi.org/10.3390/land12010121>.
- Weed Management Alternatives to the Use of Glyphosate*; 3rd ed.; Pesticide Action Network Europe (PAN Europe): Brussels, Belgium, 2023. Available online: <https://www.pan-europe.info/resources/reports/2023/03/weed-management-alternatives-use-glyphosate> (accessed on 1 June 2025).
- Sims, B.; Corsi, S.; Gbehounou, G.; Kienzle, J.; Taguchi, M.; Friedrich, T. Sustainable Weed Management for Conservation Agriculture: Options for Smallholder Farmers. *Agriculture* **2018**, *8*, 118. <https://doi.org/10.3390/agriculture8080118>.
- PN-EN ISO 12099:2017*. Animal feeding stuffs—Guidelines for the application of near infrared spectrometry (NIR). Polish Committee for Standardization: Warsaw, Poland, 2017.
- Ambroziak, K.; Wenda-Piesik, A. Comparative Characterization of Hemp Seed Cakes from Dehulled and Hulled *Cannabis sativa*, L. Var. Oleifera Cv. 'Henola': Nutritional, Functional, and Storage Stability Insights. *Foods* **2025**, *14*, 1605. <https://doi.org/10.3390/foods14091605>.
- Toleikiene, M.; Slepetyš, J.; Sarunaite, L.; Lazauskas, S.; Deveikyte, I.; Kadziulienė, Z. Soybean Development and Productivity in Response to Organic Management above the Northern Boundary of Soybean Distribution in Europe. *Agronomy* **2021**, *11*, 214. <https://doi.org/10.3390/agronomy11020214>.
- He, Z.; Xiong, J.; Kent, A.D.; Deng, Y.; Xue, K.; Wang, G.; Wu, L.; Van Nostrand, J.D.; Zhou, J. Distinct Responses of Soil Microbial Communities to Elevated CO<sub>2</sub> and O<sub>3</sub> in a Soybean Agro-Ecosystem. *ISME J.* **2014**, *8*, 714–726. <https://doi.org/10.1038/ismej.2013.177>.
- Goswami, S. Response of Rhizobium to Environmental Stress. *Agric. Food: E-Newsl.* **2020**, *2*, 117–119.
- Kurosaki, H.; Yumoto, S. Effects of Low Temperature and Shading during Flowering on the Yield Components in Soybeans. *Plant Prod. Sci.* **2003**, *6*, 17–23. <https://doi.org/10.1626/pps.6.17>.

20. Setiyono, T.D.; Weiss, A.; Specht, J.; Bastidas, A.M.; Cassman, K.G.; Dobermann, A. Understanding and Modeling the Effect of Temperature and Daylength on Soybean Phenology under High-Yield Conditions. *Field Crops Res.* **2007**, *100*, 257–271. <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2006.07.011>.
21. Matthews, M.L.; Marshall-Colón, A.; McGrath, J.M.; Lochocki, E.B.; Long, S.P. Soybean-BioCro: A Semi-Mechanistic Model of Soybean Growth. *Silico Plants* **2022**, *4*, diab032. <https://doi.org/10.1093/insilicoplants/diab032>.
22. Sun, T.; Cui, L.; Zong, L.; Zhang, S.; Jiao, Y.; Xue, X.; Jin, Y. Weed Recognition at Soybean Seedling Stage Based on YOLOV8nGP + NEXG Algorithm. *Agronomy* **2024**, *14*, 657. <https://doi.org/10.3390/agronomy14040657>.
23. Wenda-Piesik, A.; Ambroziak, K. The Choice of Soybean Cultivar Alters the Underyielding of Protein and Oil under Drought Conditions in Central Poland. *Appl. Sci.* **2022**, *12*, 7830. <https://doi.org/10.3390/app12157830>.
24. Jin, J.; Liu, X.; Wang, G.; Mi, L.; Shen, Z.; Chen, X.; Herbert, S.J. Agronomic and Physiological Contributions to the Yield Improvement of Soybean Cultivars Released from 1950 to 2006 in Northeast China. *Field Crops Res.* **2010**, *115*, 116–123. <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2009.10.016>.
25. Koebernick, J.; Gillen, A.M.; Fett, R.; Patel, S.; Fallen, B.; Pantalone, V.; Shannon, G.; Li, Z.; Scaboo, A.; Schapaugh, W.; et al. Soybean Test Weight in Relation to Genotype, Environment, and Genotype × Environment Interaction in the Southern United States. *Agron. J.* **2024**, *116*, 1265–1274. <https://doi.org/10.1002/agj2.21551>.
26. FAO; WHO. *Codex Alimentarius Commission Procedural Manual*; Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO): Rome, Italy; The World Health Organization (WHO): Geneva, Switzerland, 2023. <https://doi.org/10.4060/cc5042en>.
27. Mudgil, D.; Barak, S. Composition, Properties and Health Benefits of Indigestible Carbohydrate Polymers as Dietary Fiber: A Review. *Int. J. Biol. Macromol.* **2013**, *61*, 1–6. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2013.06.044>.
28. Kristensen, M.; Jensen, M.G. Dietary Fibres in the Regulation of Appetite and Food Intake. Importance of Viscosity. *Appetite* **2011**, *56*, 65–70. <https://doi.org/10.1016/j.appet.2010.11.147>.
29. Slavin, J. Fiber and Prebiotics: Mechanisms and Health Benefits. *Nutrients* **2013**, *5*, 1417–1435. <https://doi.org/10.3390/nu5041417>.
30. Anderson, J.W.; Baird, P.; Davis, R.H., Jr.; Ferreri, S.; Knudtson, M.; Koraym, A.; Waters, V.; Williams, C.L. Health Benefits of Dietary Fiber. *Nutr. Rev.* **2009**, *67*, 188–205. <https://doi.org/10.1111/j.1753-4887.2009.00189.x>.
31. Carr, T.P.; Cornelison, R.M.; Illston, B.J.; Stuefer-Powell, C.L.; Gallaher, D.D. Plant Sterols Alter Bile Acid Metabolism and Reduce Cholesterol Absorption in Hamsters Fed a Beef-Based Diet. *Nutr. Res.* **2002**, *22*, 745–754. [https://doi.org/10.1016/S0271-5317\(02\)00389-5](https://doi.org/10.1016/S0271-5317(02)00389-5).
32. Lunn, J.; Buttriss, J.L. Carbohydrates and Dietary Fibre. *Nutr. Bull.* **2007**, *32*, 21–64. <https://doi.org/10.1111/j.1467-3010.2007.00616.x>.
33. Jha, R.; Berrococo, J.D. Review: Dietary Fiber Utilization and Its Effects on Physiological Functions and Gut Health of Swine. *Animal* **2015**, *9*, 1441–1452. <https://doi.org/10.1017/S1751731115000919>.
34. Szulc, J.; Błaszak, B.; Wenda-Piesik, A.; Gozdecka, G.; Żary-Sikorska, E.; Bał, M.; Bauza-Kaszewska, J. Zero Waste Technology of Soybeans Processing. *Sustainability* **2023**, *15*, 14873. <https://doi.org/10.3390/su152014873>.
35. Schulp, C.J.E.; Ulug, C.; Elise Stratton, A.; Williams, T.G.; Verburg, P.H. Linking Production, Processing, and Consumption of Plant-Based Protein Alternatives in Europe. *Glob. Environ. Change* **2024**, *89*, 102940. <https://doi.org/10.1016/j.gloenvcha.2024.102940>.
36. Hou, L.; Wang, Y.; Wang, Z.; Gao, R.; Zhou, X.; Yang, S.; Luo, X.; Jiang, Z.; Liu, Z. Effects of Biochar on Soil Quality in a Maize Soybean Rotation on Mollisols. *Agronomy* **2025**, *15*, 1226. <https://doi.org/10.3390/agronomy15051226>.
37. Ordóñez, R.A.; Archontoulis, S.V.; Martinez-Feria, R.; Hatfield, J.L.; Wright, E.E.; Castellano, M.J. Root to Shoot and Carbon to Nitrogen Ratios of Maize and Soybean Crops in the US Midwest. *Eur. J. Agron.* **2020**, *120*, 126130. <https://doi.org/10.1016/j.eja.2020.126130>.
38. Qiu, L.-J.; Xing, L.-L.; Guo, Y.; Wang, J.; Jackson, S.A.; Chang, R.-Z. A Platform for Soybean Molecular Breeding: The Utilization of Core Collections for Food Security. *Plant Mol. Biol.* **2013**, *83*, 41–50. <https://doi.org/10.1007/s11103-013-0076-6>.
39. Alfaro-Wisaquillo, M.C.; Ali, M.; Patiño, D.; Oviedo-Rondon, E.O.; Vann, R.; Joseph, M. Variations in Soybean Nutritional and Anti-Nutritional Quality Based on Location and Planting Dates. *Int. J. Food Sci. Technol.* **2024**, *59*, 5411–5419. <https://doi.org/10.1111/ijfs.17241>.
40. Jeon, Y.-H.; Gu, B.-J.; Ryu, G.-H. Investigating the Potential of Full-Fat Soy as an Alternative Ingredient in the Manufacture of Low- and High-Moisture Meat Analogs. *Foods* **2023**, *12*, 1011. <https://doi.org/10.3390/foods12051011>.
41. Mishra, R.; Tripathi, M.; Tripathi, N.; Singh, J.; Tiwari, S. Nutritional and Anti-Nutritional Factors in Soybean. *Acta Sci. Agric.* **2025**, *8*, 46–63. <https://doi.org/10.31080/ASAG.2024.08.1432>.

42. Rebello, C.J.; Boué, S.; Levy, R.J.; Puyau, R.; Beyl, R.A.; Greenway, F.L.; Heiman, M.L.; Keller, J.N.; Reynolds, C.F.; Kirwan, J.P. Safety and Tolerability of Whole Soybean Products: A Dose-Escalating Clinical Trial in Older Adults with Obesity. *Nutrients* **2023**, *15*, 1920. <https://doi.org/10.3390/nu15081920>.
43. Bales, A.M.; Lock, A.L. Effects of Raw and Roasted High Oleic Soybeans on Milk Production of High-Producing Dairy Cows. *J. Dairy Sci.* **2024**, *107*, 10869–10881. <https://doi.org/10.3168/jds.2024-25092>.
44. *Soja w Uprawie i Żywieniu Zwierząt*; Staniak, M., Świątkiewicz, M., Instytut Uprawy, Nawożenia i Gleboznawstwa-Państwowy Instytut Badawczy, Instytut Zootechniki, Eds.; Instrukcja Upowszechnieniowa/[Instytut Uprawy, Nawożenia i Gleboznawstwa]; Dział Upowszechniania i Wydawnictw IUNG-PIB w Puławach: Puławy, Poland, 2024.
45. FAO. Fats and Fatty Acids in Human Nutrition: Report of an Expert Consultation (Food and Nutrition Paper No. 91), 2010. Report of an Expert Consultation. Available online: [https://www.fao.org/fileadmin/user\\_upload/nutrition/docs/requirements/fatsandfattacidsreport.pdf](https://www.fao.org/fileadmin/user_upload/nutrition/docs/requirements/fatsandfattacidsreport.pdf) (accessed on 30 May 2025).
46. Lemke, S.L.; Vicini, J.L.; Su, H.; Goldstein, D.A.; Nemeth, M.A.; Krul, E.S.; Harris, W.S. Dietary Intake of Stearidonic Acid-Enriched Soybean Oil Increases the Omega-3 Index: Randomized, Double-Blind Clinical Study of Efficacy and Safety. *Am. J. Clin. Nutr.* **2010**, *92*, 766–775. <https://doi.org/10.3945/ajcn.2009.29072>.
47. Ganesan, B.; Brothersen, C.; McMahon, D.J. Fortification of Foods with Omega-3 Polyunsaturated Fatty Acids. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* **2014**, *54*, 98–114. <https://doi.org/10.1080/10408398.2011.578221>.
48. Kondratowicz-Pietruszka, E.; Ostasz, L. *Dynamics of Oxidation of Heated Vegetable Oils*; Cracow University of Economics: Kraków, Poland, 2010.
49. Qin, P.; Wang, T.; Luo, Y. A Review on Plant-Based Proteins from Soybean: Health Benefits and Soy Product Development. *J. Agric. Food Res.* **2022**, *7*, 100265. <https://doi.org/10.1016/j.jafr.2021.100265>.
50. Fukuzumi, A.; Tokumasu, N.; Matsuo, A.; Yano, E.; Zaima, N.; Moriyama, T. Detection and Characterization of the Soybean Allergen Gly m 7 in Soybeans and Processed Soybean Foods. *Allergies* **2021**, *1*, 233–246. <https://doi.org/10.3390/allergies1040022>.
51. Sarwar Gilani, G.; Xiao, C.W.; Cockell, K.A. Impact of Antinutritional Factors in Food Proteins on the Digestibility of Protein and the Bioavailability of Amino Acids and on Protein Quality. *Br. J. Nutr.* **2012**, *108*, S315–S332. <https://doi.org/10.1017/S0007114512002371>.
52. Asioli, D.; Aschemann-Witzel, J.; Caputo, V.; Vecchio, R.; Annunziata, A.; Næs, T.; Varela, P. Making Sense of the “Clean Label” Trends: A Review of Consumer Food Choice Behavior and Discussion of Industry Implications. *Food Res. Int.* **2017**, *99*, 58–71. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.07.022>.
53. Caporgno, M.P.; Mathys, A. Trends in Microalgae Incorporation Into Innovative Food Products With Potential Health Benefits. *Front. Nutr.* **2018**, *5*, 58. <https://doi.org/10.3389/fnut.2018.00058>.
54. Bali, A.; Zabulonė, A.; Kumar, S.P.; Liudvinavičiūtė, D.; Pečiulytė, L.; Rutkaitė, R.; Ertbjerg, P.; Šalaševičienė, A. Effects of Extrusion Conditions on the Morphological, Functional, and Sensory Properties of Soy Press Cake Extrudates. *Heliyon* **2024**, *10*, e32614. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e32614>.
55. Świątkiewicz, M.; Szczepanik, K.; Gala, Ł.; Grela, E.R.; Witaszek, K.; Barszcz, M.; Tuśnio, A.; Taciak, M. Determination of the Impact of Extruded Soybean Press Cake on Rearing and Health Indices of Piglets. *Agriculture* **2024**, *14*, 1899. <https://doi.org/10.3390/agriculture14111899>.
56. Wang, Z.; Peters, B.A.; Yu, B.; Grove, M.L.; Wang, T.; Xue, X.; Thyagarajan, B.; Daviglus, M.L.; Boerwinkle, E.; Hu, G.; et al. Gut Microbiota and Blood Metabolites Related to Fiber Intake and Type 2 Diabetes. *Circ. Res.* **2024**, *134*, 842–854. <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.123.323634>.
57. Zhang, H. Effects of Soybean–Corn Rotation on Crop Yield, Economic Benefits, and Water Productivity in the Corn Belt of Northeast China. *Sustainability* **2023**, *15*, 11362. <https://doi.org/10.3390/su151411362>.

**Disclaimer/Publisher’s Note:** The statements, opinions and data contained in all publications are solely those of the individual author(s) and contributor(s) and not of MDPI and/or the editor(s). MDPI and/or the editor(s) disclaim responsibility for any injury to people or property resulting from any ideas, methods, instructions or products referred to in the content.

## Oświadczenie Autora rozprawy doktorskiej

mgr inż. Krystian Maciej Ambroziak  
(tytuł zawodowy, imiona i nazwisko współautora)

Politechnika Bydgoska im. Jana i Jędrzeja Śniadeckich  
(miejsce pracy/afiliacja)

### OŚWIADCZENIE

Oświadczam, iż mój wkład autorski w niżej wymienionym/wymienionych artykule/artykułach naukowym/naukowych był następujący:

1. Wenda-Piesik Anna, Ambroziak Krystian. The Choice of Soybean Cultivar Alters the Underyielding of Protein and Oil under Drought Conditions in Central Poland. *Applied Sciences* **2022**, 12, 7830, <https://doi.org/10.3390/app12157830>, pkt. MNiSW 100, *Impact Factor* 2.838

#### Wykonane zadania w ramach artykułu:

- a) Opracowanie wyników;
- b) Pomoc w przygotowaniu treści artykułu.

2. Ambroziak Krystian, Wenda-Piesik Anna, Kozera Wojciech. Regulating the plant density influences to the weed infestation, productivity and chemical composition of seeds of true hemp *Cannabis sativa* L. *Journal of Elementology* **2023**, 28(3), 619-631, <https://doi.org/10.5601/jelem.2023.28.3.2425>, pkt. MNiSW 140, *Impact Factor* 0.923

#### Wykonane zadania w ramach artykułu:

- a) Koncepcja pracy, założenie i prowadzenie doświadczeń polowych;
- b) Pobieranie prób z plantacji, wykonywanie pomiarów, próby laboratoryjne;
- c) Pisanie artykułu, współpraca z redaktorem, korekty.

3. Ambroziak Krystian, Wenda-Piesik Anna. Comparative Characterization of Hemp Seed Cakes from Dehulled and Hulled *Cannabis sativa* L. var. oleifera cv. 'Henola': Nutritional, Functional and Storage Stability Insights. *Foods* **2025**, 14, 1605, <https://doi.org/10.3390/foods14091605>, pkt. MNiSW 100, *Impact Factor* 5.1

#### Wykonane zadania w ramach artykułu:

- a) Koncepcja pracy, założenie i prowadzenie doświadczenia zgodnie z opracowaną metodyką, pobieranie prób,

\*\*\* W przypadku prac dwu- lub wieloautorskich wymagane są oświadczenia kandydata do stopnia doktora oraz współautorów, wskazujące na ich merytoryczny wkład w powstanie każdej pracy (np. twórca hipotezy badawczej, pomysłodawca badań, wykonanie specyficznych badań – np. przeprowadzenie konkretnych doświadczeń, opracowanie i zebranie ankiet itp., wykonanie analizy wyników, przygotowanie manuskryptu artykułu i inne). Określenie wkładu danego autora, w tym kandydata do stopnia doktora, powinno być na tyle precyzyjne, aby umożliwić dokładną ocenę jego udziału i roli w powstaniu każdej pracy.

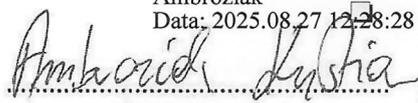
- b) Przygotowanie materiału do przetwórstwa, obłuszczenie i tłoczenie nasion, standaryzacja procesu;
  - c) Wykonywanie analiz, selekcja prób, wysyłka i koordynacja analiz laboratoryjnych zewnętrznych, kolekcjonowanie i synteza wyników;
  - d) Pisanie artykułu, korekty.
4. Ambroziak Krystian, Wenda-Piesik Anna. Dual Production of Full-Fat Soy and Expanded Soybean Cake from Non-GMO Soybeans: Agronomic and Nutritional Insights Under Semi-Organic Cultivation. *Appl. Sci.* **2025**, 15(15), 8154  
<https://doi.org/10.3390/app15158154>, pkt. MNiSW 100, Impact Factor 2.7

Wykonane zadania w ramach artykułu:

- a) Koncepcja pracy, Zakładanie, prowadzenie i koordynacja doświadczeń polowych;
- b) Analizy laboratoryjne;
- c) Nadzór nad recepturami i kontrola procesu produkcyjnego;
- d) Analiza i opracowanie wyników, pisanie artykułu, współpraca z redaktorem podczas korekt.

Bydgoszcz, 27.08.2025  
miejsowość, data

Signature Not Verified  
Dokument podpisany przez Krystian  
Ambroziak  
Data: 2025.08.27 12:28:28 CEST

  
.....  
podpis autora

  
.....  
podpis promotora

## Oświadczenie Współautora

dr hab. inż. Wojciech Kozera  
(tytuł zawodowy, imiona i nazwisko współautora)

Politechnika Bydgoska im. Jana i Jędrzeja Śniadeckich  
(miejsce pracy/afiliacja)

### OŚWIADCZENIE

Oświadczam, iż mój wkład autorski w niżej wymienionym/wymienionych artykule/artykulach naukowym/naukowych był następujący:

1. *Ambroziak Krystian, Wenda-Piesik Anna, Kozera Wojciech. Regulating the plant density influences to the weed infestation, productivity and chemical composition of seeds of true hemp Cannabis sativa L. Journal of Elementology 2023, 28(3), 619-631, <https://doi.org/10.5601/jelem.2023.28.3.2425>, pkt. MNiSW 140, Impact Factor 0.923*

#### Wykonane zadania w ramach artykułu:

- a) Wykonanie analiz składu chemicznego nasion oleistych pochodzących z konopi siewnych;
- b) Wykonanie i interpretacja wyników analiz zawartości makro i mikrośladników, analiza różnic między badanym materiałem;
- c) Opracowanie i opis metodyki badań laboratoryjnych.

Jednocześnie wyrażam zgodę na przedłożenie wyżej wymienionej/wymienionych pracy/prac przez mgr inż. Krystiana Ambroziaka (podać tytuł zawodowy imię i nazwisko kandydata do stopnia doktora) jako część rozprawy doktorskiej opartej na zbiorze opublikowanych i powiązanych tematycznie artykułów naukowych.

Bydgoszcz, 07.08.2025  
miejsce, data

  
.....  
podpis Współautora

---

\*\* W przypadku prac dwu- lub wieloautorskich wymagane są oświadczenia kandydata do stopnia doktora oraz współautorów, wskazujące na ich merytoryczny wkład w powstanie każdej pracy (np. twórca hipotezy badawczej, pomysłodawca badań, wykonanie specyficznych badań – np. przeprowadzenie konkretnych doświadczeń, opracowanie i zebranie ankiet itp., wykonanie analizy wyników, przygotowanie manuskryptu artykułu i inne). Określenie wkładu danego autora, w tym kandydata do stopnia doktora, powinno być na tyle precyzyjne, aby umożliwić dokładną ocenę jego udziału i roli w powstaniu każdej pracy.

## Co-author's Declaration

dr hab. inż. Wojciech Kozera

(Professional title, name(s) and surname of the Co-author)

Bydgoszcz University of Science and Technology

(Workplace/affiliation)

### DECLARATION

I declare that my author's contribution to the journal article/articles mentioned below was as follows\*:

**1. Ambroziak Krystian, Wenda-Piesik Anna, Kozera Wojciech.**

*Regulating the Plant Density Influences the Weed Infestation, Productivity and Chemical Composition of Seeds of True Hemp (Cannabis sativa L.).*

**Journal of Elementology** 2023, 28(3), 619–631.

<https://doi.org/10.5601/jelem.2023.28.3.2425>, MNiSW: 140 pts, Impact Factor: 0.923

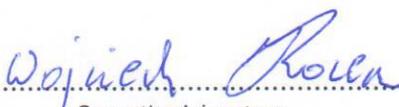
Tasks completed as part of the article:

- a) Analyzing the chemical composition of hemp-derived oilseeds;
- b) Performing and interpreting the results of macro- and micronutrient analyses, analyzing differences between the tested materials;
- c) Developing and describing the laboratory test methodology.

At the same time, I hereby agree to the submission of the above-mentioned paper(s) by mgr inż. Krystian Ambroziak as part of the doctoral dissertation based on a collection of published and thematically related scientific papers.

Bydgoszcz, 07.08.2025

Place, date

  
.....  
Co-author's signature

\* In the case of two- or multi-author papers, declarations of a candidate for the doctoral degree and co-authors are required, indicating their substantive contribution to the creation of each paper (e.g. the creator of the research hypothesis, the originator of the research, performance of specific research – e.g. carrying out particular experiments, developing and collecting questionnaires, etc., analysis of the results, preparation of the article manuscript and others). Identification of the contribution of a given author, including a candidate for the doctoral degree, should be precise enough to allow for an accurate assessment of his/her participation and role in the creation of each paper.

## Oświadczenie Współautora

Prof. dr hab. inż. Anna Wenda-Piesik  
(tytuł zawodowy, imiona i nazwisko współautora)

Politechnika Bydgoska im. Jana i Jędrzeja Śniadeckich  
(miejsce pracy/afiliacja)

### OŚWIADCZENIE

Oświadczam, iż mój wkład autorski w niżej wymienionym/wymienionych artykule/artykułach naukowym/naukowych był następujący\*:

1. Wenda-Piesik Anna, Ambroziak Krystian. The Choice of Soybean Cultivar Alters the Underyielding of Protein and Oil under Drought Conditions in Central Poland. *Applied Sciences* **2022**, 12, 7830, <https://doi.org/10.3390/app12157830>, pkt. MNiSW 100, *Impact Factor* 2.838

Wykonane zadania w ramach artykułu:

- a) Opracowanie koncepcji i metodologii badań polowych dotyczących wpływu suszy na plonowanie i skład nasion różnych odmian soi.
- b) Interpretacja wyników chemicznych (białko, tłuszcz), analiza różnic między odmianami, redakcja naukowa manuskryptu i przygotowanie do recenzji.

2. Ambroziak Krystian, Wenda-Piesik Anna, Kozera Wojciech. Regulating the plant density influences to the weed infestation, productivity and chemical composition of seeds of true hemp *Cannabis sativa* L. *Journal of Elementology* **2023**, 28(3), 619-631, <https://doi.org/10.5601/jelem.2023.28.3.2425>, pkt. MNiSW 140, *Impact Factor* 0.923

Wykonane zadania w ramach artykułu:

- a) Współudział w projektowaniu układu doświadczenia (gęstość siewu konopi i zwalczanie chwastów), dobór parametrów biometrycznych i agrotechnicznych.
- b) Konsultacje metodyczne w zakresie oceny składu chemicznego nasion i opracowania statystycznego, weryfikacja merytoryczna i językowa artykułu.

3. Ambroziak Krystian, Wenda-Piesik Anna. Comparative Characterization of Hemp Seed Cakes from Dehulled and Hulled *Cannabis sativa* L. var. oleifera cv. 'Henola': Nutritional, Functional and Storage Stability Insights. *Foods* **2025**, 14, 1605, <https://doi.org/10.3390/foods14091605>, pkt. MNiSW 100, *Impact Factor* 5.1

Wykonane zadania w ramach artykułu:

---

\* W przypadku prac dwu- lub wieloautorskich wymagane są oświadczenia kandydata do stopnia doktora oraz współautorów, wskazujące na ich merytoryczny wkład w powstanie każdej pracy (np. twórca hipotezy badawczej, pomysłodawca badań, wykonanie specyficznych badań – np. przeprowadzenie konkretnych doświadczeń, opracowanie i zebranie ankiet itp., wykonanie analizy wyników, przygotowanie manuskryptu artykułu i inne). Określenie wkładu danego autora, w tym kandydata do stopnia doktora, powinno być na tyle precyzyjne, aby umożliwić dokładną ocenę jego udziału i roli w powstaniu każdej pracy.

a) *Wsparcie przy planowaniu zakresu analizy porównawczej makuchów z nasion obtuszczonej i nieobtuszczonej; pomoc w interpretacji wyników dotyczących trwałości i właściwości funkcjonalnych.*

b) *Nadzór merytoryczny nad częścią przetwórczą i zatwierdzenie końcowej wersji artykułu.*

4. Ambroziak Krystian, Wenda-Piesik Anna. Dual Production of Full-Fat Soy and Expanded Soybean Cake from Non-GMO Soybeans: Agronomic and Nutritional Insights Under Semi-Organic Cultivation. *Appl. Sci.* **2025**, 15(15), 8154 <https://doi.org/10.3390/app15158154>, pkt. MNiSW 100, Impact Factor 2,7

Wykonane zadania w ramach artykułu:

a) *Konsultacje dotyczące konstrukcji systemu uprawy proekologicznej soi i interpretacji danych polowych oraz technologicznych w kontekście celów Europejskiego Zielonego Ładu.*

b) *Korekta naukowa, redakcja językowa oraz wsparcie w przygotowaniu części przeglądowej i aplikacyjnej manuskryptu.*

Jednocześnie wyrażam zgodę na przedłożenie wyżej wymienionej/wymienionych pracy/prac przez mgr inż. Krystiana Ambroziaka (podać tytuł zawodowy imię i nazwisko kandydata do stopnia doktora) jako część rozprawy doktorskiej opartej na zbiorze opublikowanych i powiązanych tematycznie artykułów naukowych.

Bydgoszcz, 07.08.2025  
miejsowość, data

  
.....  
podpis Współautora