

GRZEGORZ TOKARCZYK, BARBARA SZYMCZAK, MARIUSZ SZYMCZAK,  
ZDZISŁAW DOMISZEWSKI

## ZMIANY WYBRANYCH WSKAŹNIKÓW CHEMICZNYCH I MIKROBIOLOGICZNYCH W PROCESIE CIEPŁEGO WĘDZENIA ROZMROŻONEJ SIEI (*COREGONIS CLUPEIFORMIS*)

### Streszczenie

W pracy określono wpływ procesu wędzenia na jakość siei wędzonej (*Coregonis clupeaformis*), wyprodukowanej z surowca mrożonego o obniżonej jakości. Analizie poddano cztery partie ryb mrożonych sprowadzonych z Kanady. Stan surowca określono za pomocą testów chemicznych i mikrobiologicznych. Zawartość azotu lotnych zasad amonowych (N-LZA) tylko w trzech partiach ryb wynosiła mniej niż 35 mg. Zaawansowane zmiany oksydacyjne i hydrolityczne stwierdzono w szczególności w III partii. Nie wykazano obecności pałeczek *Listeria monocytogenes* w surowcu mrożonym. Po wędzeniu stwierdzono większą zawartość białka i tłuszczu, mniejszą ilość pierwotnych, a wzrost wtórnych produktów utlenienia lipidów, wzrost ilości PUFA, mniejszą zawartość N-LZA, N-TMA i N-NH<sub>3</sub> oraz jedynie w partii III obecność *L. monocytogenes*.

**Słowa kluczowe:** sieja, mrożenie, wędzenie, jakość

### Wprowadzenie

Wobec powszechnego stosowania chłodnictwa w handlu rybami i ogromnej konkurencji innych metod utrwalania, obecnie wędzi się ryby przede wszystkim w celu uzyskania produktu o bardzo wysokich walorach sensorycznych – barwie, zapachu, smaku i soczystości, a jednocześnie niezawierających groźnych drobnoustrojów i związków chemicznych szkodliwych dla zdrowia.

Ze względu na zdecydowanie wyższą pożądalność sensoryczną wędzeniu poddaje się głównie ryby o dużej zawartości tłuszczu. Szczególnie poszukiwane przez konsumentów są łososie i pstrągi oraz sieje i sielawy. Ze względu na walory biologiczne

---

*Dr inż. G. Tokarczyk, dr inż. M. Szymczak, Katedra Technologii Żywności, dr inż. B. Szymczak, Katedra Mikrobiologii i Biotechnologii Stosowanej, dr inż. Z. Domiszewski, Katedra Towaroznawstwa i Oceny Jakości, Wydz. Nauk o Żywności i Rybactwa, Zachodniopomorski Uniwersytet Technologiczny w Szczecinie, ul. Papieża Pawła VI 3, 71-459 Szczecin*

(szybki wzrost i życie w ławicy), gospodarcze (łatwość połowu i hodowli) i rynkowe (wysoka cena) koregonidy należą do najcenniejszych gatunków ichtiofauny jeziorowej [7]. Już w 2008 r. produkcja w akwakulturze wyniosła przeszło 60 % światowej podaży ryb. Przewiduje się, że spożycie ryb nadal będzie rosło, a popytu nie będzie można w pełni zaspokoić rybami pochodzącymi z naturalnego środowiska. W związku z powyższym hodowla takich ryb, jak sieja oraz ich przetwórstwo będzie jednym z rozwiązań tego problemu.

Ryby wędzone zaliczane są do tzw. produktów wygodnych, czyli gotowych do bezpośredniego spożycia. Na jakość gotowego produktu wpływa wiele zmiennych, m.in. zawartość soli i wody w mięsie, temperatura wędzenia i przechowywania, ilość i skład dymu, sposób pakowania, ale przede wszystkim stan surowca. Do wędzenia powinno się stosować surowiec o jak najwyższej jakości. Jednak ryby bardzo szybko ulegają zepsuciu, dlatego nie można wykluczyć, że wędzeniu mogą być poddawane ryby o różnym stanie świeżości. Użycie surowca o niskiej jakości może zatem spowodować zagrożenie dla zdrowia konsumenta.

Ryby surowe oraz wędzone mogą być także źródłem zróżnicowanej mikroflory saprofitycznej i chorobotwórczej, między innymi *Listeria monocytogenes*. Obecność tej bakterii stwierdzano wielokrotnie w żywności wygodnej, między innymi w rybach solonych i wędzonych przechowywanych chłodniczo. Może ona występować na powierzchni surowca oraz w tkance w wyniku filetowania, solankowania i nastrzykiwania. W rybach wędzonych na gorąco zanieczyszczenie *L. monocytogenes* następuje głównie podczas pakowania produktu [36]. Ponadto dobrym wskaźnikiem chemicznym jakości ryb mrożonych i wędzonych jest zawartość azotu lotnych zasad amonowych.

Celem niniejszej pracy było określenie wpływu wędzenia na wybrane parametry fizykochemiczne i mikrobiologiczne siei wędzonej, wyprodukowanej z surowca mrożonego.

### **Material i metody badań**

Sieję (*Coregonis clupeaformis*) pozyskano z Presteve Foods LTD (Wheatley, Ontario, Kanada) w lipcu 2009 r. Średnia masa i długość badanych ryb wynosiły odpowiednio  $1426,9 \pm 119$  g i  $46 \pm 3,5$  cm. Ryby poddano obróbce wstępnej do postaci patroszonej z głową, zamrożono i przechowywano w temperaturze  $-19 \pm 1$  °C. Mrożone ryby zapakowano w worki z tworzywa sztucznego oraz w opakowania jednostkowe z kartonu z tekstury falistej. W lipcu 2010 r. analizie poddano cztery partie mrożonych ryb i po oznaczeniu zawartości azotu lotnych zasad amonowych (N-LZA) do dalszych badań przeznaczono trzy partie ryb, których tkanka zawierała mniej niż 35 mg N-LZA, zgodnie z rozporządzeniem unijnym WE 2074/2005 [31]. Rozmrażanie prób zapako-

wanych w szczelnych woreczkach z PA-PE (po jednej tuszce) wykonywano w chłodni w temp.  $4 \pm 1$  °C.

Wędzenie I, II i III partii ryb wykonywano w zakładzie przetwórstwa ryb w elektrycznej komorze wędzarniczej (KwG-3-E-D1-S1, Stawiany, Pruszcz Gdański). Przed wędzeniem ryby solankowano w kąpieli (1 : 1 m/m) o stężeniu soli 6 % przez ok. 16 h. Proces wędzenia ciepłego składał się z dwóch etapów: suszenia w temp.  $60 \pm 2$  °C przez 140 min i wędzenia właściwego w temperaturze  $60 \pm 2$  °C przez 90 min, osiągając w środku geometrycznym ryby 46 °C i 51 °C. Po schłodzeniu każdą tuszkę pakowano osobno próżniowo w worek z tworzywa PA-PE i w temp.  $+4 \pm 1$  °C dostarczano do laboratorium.

Rozmrożone oraz wędzone tuszki filetowano, odkórzano, a mięso rozdrabniano blenderem ręcznym. W otrzymanym farszu bezzwłocznie oznaczano zawartość wody metodą suszarkową, zawartość azotu ogólnego metodą Kjeldahla i zawartość tłuszczu całkowitego metodą ekstrakcji eterem wg AOAC 1990 [2]. Farsz odbiałczano 5 % kwasem trichlorooctowym (TCA) w proporcji 1 : 4 (m/v) i w otrzymanym ekstrakcji oznaczano azot lotnych zasad amonowych (N-LZA) metodą mikrodyfuzji Conway'a [5].

Lipidy z rozdrobnionej tkanki mięsnej ekstrahowano dwukrotnie za pomocą mieszaniny chloroformu i metanolu (2 : 1) zgodnie z metodą Bligh i Dyer [3]. Jakość lipidów oznaczano za pomocą następujących wskaźników: liczby nadtlenkowej (PV) wg PN-ISO 3960:1996 [27], liczby anizydynowej (AsV) wg PN-EN ISO 6885:2008 [26], liczby kwasowej (AV) wg PN-EN ISO 660:2010 [25] oraz skład kwasów tłuszczowych metodą chromatografii gazowej według metodyki opisanej przez Domiszewskiego i Bienkiewicza [8]. Interpretację jakościową chromatogramów prowadzono, porównując czas retencji poszczególnych estrów metylowych kwasów tłuszczowych (EMKT) badanej próbki z czasem retencji analogicznych wzorców EMKT firmy Sigma (Lipid Standard). Wszystkie analizy fizykochemiczne wykonano w trzech powtórzeniach.

Badania mikrobiologiczne w kierunku obecności *L. monocytogenes* i ogólnej liczby bakterii psychrofilnych w mięsie siei wykonano zgodnie z PN-EN ISO 11290-2 2000/A1:2005 [24] i PN-90-A-75052/05 [23]. Przeprowadzono identyfikację biochemiczną (rozkład cukrów i zdolność do hemolizy) oraz genetyczną techniką PCR. Izolację DNA bakteryjnego wykonano przy użyciu zestawu do izolacji Genomic Mini AX Bacteria (A&A Biotechnology, Polska). Jako próbę wzorcową wykorzystano szczep *L. monocytogenes* CEB 3176 wyizolowany w Instytucie Pasteura w Paryżu. Do identyfikacji szczepów *L. monocytogenes* techniką PCR wykorzystano specyficzne dla konserwatywnej sekwencji genu *iap* startery: Mar 1 o sekwencji GGG CTT TAT CCA TAA AATA i Mar 2 o sekwencji TTG GAA GAA CCT TGA TTA (TiB MolBiol, Polska). Rezultatem amplifikacji był produkt wielkości 453 p.z. Reakcję PCR prowa-

dzono w objętości 50  $\mu$ l mieszaniny reakcyjnej zawierającej 500 mM KCl, 100 mM Tris-HCl pH 8,3 (w 25 °C), 2 mM MgCl<sub>2</sub>, 0,3 mM każdego nukleotydu, 12,5 pM·ml<sup>-1</sup> każdego startera, 1U *Taq* DNA polimerazy (Eppendorf, Niemcy) i 5  $\mu$ l matrycy DNA w termocyklerze (Mastercycler Gradient, Eppendorf, Niemcy). Profil termiczny składał się z następujących etapów: wstępna denaturacja 5 min w temp. 95 °C oraz 35 cykli obejmujących: denaturację 90 s w 95 °C, przyłączanie starterów 80 s w 46 °C i wydłużanie 120 s w 72 °C. Amplifikacja kończyła się wydłużaniem 7 min w temp. 72 °C. Uzyskane amplikony rozdzielano elektroforetycznie w 1,5 % żelu agarozowym (Prona agarowe Plus, Belgia), barwionym bromkiem etydyny (Bio-Rad, USA). Ostatnim etapem była wizualizacja żelu w świetle UV (Gel-Doc 2000 Bio-Rad, USA) i archiwizacja otrzymanych elektroforogramów.

Wszystkie wyniki opracowano statystycznie za pomocą programu Statistica 9.0, testem Tukey'a HSD, przy poziomie istotności  $\alpha \leq 0,05$  i granicy ufności 0,95.

## Wyniki i dyskusja

### *Charakterystyka fizykochemiczna*

Tkanka mięsna surowca mrożonego zawierała 68 - 73 % wody, 16 - 19 % białka i od 7 do 12 % tłuszczu (tab. 1). Stwierdzone istotne różnice pomiędzy partiami, zarówno pod względem zawartości białka, jak i tłuszczu, wynikać mogą z efektywności wykorzystania paszy, na który wpływ ma genotyp siei [28].

Proces wędzenia spowodował ubytek wody do poziomu 63,4 - 65,7 %, co skutkowało wzrostem zawartości białka i tłuszczu o ok. 1 %. Udział wody w wędzonej tkance siei był zbyt wysoki dla ryb wędzonych na gorąco (35 - 60 %) i wg PN-85/A-86772 [22] odpowiadał produktom wędzonym na zimno (50 - 72 %). Z kolei stężenie soli kuchennej w mięsie (1,87 - 2,81 %) było charakterystyczne dla ryb wędzonych na gorąco (1 - 3 %), a nie na zimno (6 - 9 %). Wynika to prawdopodobnie z faktu, że ryby poddane były procesowi wędzenia ciepłego. Ponadto większa zawartość soli występowała w próbach zawierających więcej białka, jednak zależność ta nie wpłynęła na większą wodochłonność tkanki gotowego produktu, co może być wynikiem wpływu długiego/nieprawidłowego mrożenia na zmiany denaturacyjne białka.

Zgodnie z unijnym rozporządzeniem [31] maksymalna zawartość azotu lotnych zasad amonowych w produktach rybnych wynosi 35 mg w 100 g tkanki. Badany surowiec (partie I i II) zawierał ok 20 - 24 mg azotu tej frakcji. Zawartość azotu trimetyloaminy (N-TMA) i amoniaku (N-NH<sub>3</sub>) wynosiła odpowiednio 2,13 - 2,94 mg i 19,91 - 21,6 mg/ 100 g. Ryby z partii III charakteryzowały się natomiast mniejszą zawartością N-LZA i N-NH<sub>3</sub> a większą N-TMA. Wartości te, szczególnie w przypadku mięsa siei zawierającego dużą ilość tłuszczu (partie I i II), mogą wskazywać na obniżoną świeżość surowca (tab. 2). Proces solankowania i wędzenia wpłynął na zmniejszenie ilości

Tabela 1

Zawartość wody, białka, tłuszczu i soli w mięsie siei mrożonej i wędzonej [%].  
Content of water, protein, lipid, and salt in frozen and smoked whitefish meat [%].

| Badany parameter<br>Parameter analyzed | Partia / Batch I  |                   | Partia / Batch II |                   | Partia / Batch III  |                   |
|--|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|---------------------|-------------------|
|  | mrożona<br>frozen | wędzona<br>smoked | mrożona<br>frozen | wędzona<br>smoked | mrożona -<br>frozen | wędzona<br>smoked |
| Woda / Water                           | 69,84 ±<br>0,23   | 65,6 ±<br>0,12    | 68,72 ±<br>0,42   | 63,4 ±<br>0,21    | 73,31 ±<br>0,08     | 65,7 ±<br>0,11    |
| Białko / Protein                       | 15,8 ±<br>0,16    | 16,2 ±<br>0,12    | 18,4 ±<br>0,08    | 18,9 ±<br>0,10    | 19,1 ±<br>0,13      | 20,6 ±<br>0,25    |
| Tłuszcz / Lipid                        | 11,03 ±<br>0,45   | 12,18 ±<br>0,00   | 11,98 ±<br>0,43   | 12,45 ±<br>0,00   | 7,23 ±<br>0,16      | 8,11 ±<br>0,00    |
| NaCl                                   | 0,05 ±<br>0,00    | 1,87 ±<br>0,00    | 0,04 ±<br>0,00    | 2,34 ±<br>0,00    | 0,03 ±<br>0,00      | 2,81 ±<br>0,00    |

Objaśnienia: / Explanatory notes:

<sup>abc</sup> – różne litery w tym samym wierszu oznaczają, że różnice pomiędzy wartościami są statystycznie nieistotne ( $P \leq 0,05$ ) / different letters in the same row denote that the differences between values are statistically insignificant at  $P \leq 0.05$ .

Tabela 2

Zawartość N-LZA, N-TMA i N-NH<sub>3</sub> w mięsie siei mrożonej i wędzonej [mg/100 g].  
Content of N-TVb, N-TMA and N-NH<sub>3</sub> in frozen and smoked meat of whitefish [mg/100 g].

| Badana frakcja<br>azotowa<br>Nitrogen fraction<br>analyzed | Partia / Batch I             |                              | Partia / Batch II            |                              | Partia / Batch III |                   |
|--|------------------------------|------------------------------|------------------------------|------------------------------|--------------------|-------------------|
|  | mrożona<br>frozen            | wędzona<br>smoked            | mrożona<br>frozen            | wędzona<br>smoked            | mrożona<br>frozen  | wędzona<br>smoked |
| N-LZA  | 20,85 ±<br>3,07 <sup>a</sup> | 10,56 ±<br>0,59 <sup>b</sup> | 23,70 ±<br>0,35 <sup>a</sup> | 10,66 ±<br>0,43 <sup>b</sup> | 14,34 ±<br>1,22    | 10,75 ±<br>0,57   |
| N-TMA  | 2,94 ±<br>0,71               | 1,23 ±<br>0,9                | 2,13 ±<br>1,22 <sup>a</sup>  | 1,8 ±<br>0,82 <sup>a</sup>   | 4,49 ±<br>0,62     | 0,57 ±<br>0,44    |
| N-NH <sub>3</sub>  | 19,91 ±<br>2,54 <sup>a</sup> | 9,33 ±<br>0,75 <sup>b</sup>  | 21,57 ±<br>0,93 <sup>a</sup> | 8,86 ±<br>0,118 <sup>b</sup> | 9,84 ±<br>1,61     | 10,18 ±<br>1,13   |

Objaśnienia jak pod tab. 1. / Explanatory notes as in Tab. 1.

omawianych związków o ok. połowę. Jedynie w przypadku surowca z partii III wystąpił wzrost ilości N-NH<sub>3</sub>. Może to oznaczać, że odrzucona we wstępnych badaniach partia IV, po wędzeniu zostałaby uznana za zdatną do spożycia, pomimo zbyt wysokiej wyjściowej zawartości N-LZA.

W większości ryb świeżych zawartość N-LZA wynosi ok. 10 mg/100 g [18, 21] i wzrasta po wędzeniu przynajmniej dwukrotnie w wyniku zmian autolitycznych i działalności drobnoustrojów [18]. Ponadto zawartość N-LZA w czasie składowania chłodniczego może wzrosnąć kilkakrotnie w stosunku do jego ilości w surowcu świeżym [18]. Według danych literatury światowej akceptowany poziom N-LZA w rybach wędzonych może wynieść 20 - 25 mg [15], 25 - 30 mg [20], 35 mg [13], a nawet 35 - 40 mg w 100 g [4]. Różnice te odzwierciedlają różne produkty, szczególne metody obróbki oraz warunki przetwarzania. Z kolei zawartość 10 - 15 mg N-TMA/100 g w produktach rybnych jest zwykle traktowana jako górna granica ich dopuszczalności do spożycia przez ludzi [13]. Ryby ze wszystkich analizowanych partii mieściły się w tym zakresie, a ponadto po wędzeniu ilość N-TMA zmalała w przeciwieństwie do wyników uzyskanych przez innych badaczy. Koral i wsp. [18] stwierdzili przyrost N-TMA w mięsie belony z poziomu 0,98 do 1,22 mg/100 g, a Goulas i Kontominas [12] odnotowali podobne zależności w mięsie makreli japońskiej.

Zawartość tłuszczu w surowych tuszach siei w partii I i II była zbliżona i wynosiła około 11 %. Partie te charakteryzowały się również bardzo podobnym składem kwasów tłuszczowych (KT) (tab. 3). W III partii zawartość tłuszczu była mniejsza i wynosiła 7 %. W partii tej stwierdzono również najwyższy udział polienowych kwasów tłuszczowych (PUFA), który wyniósł 32 %. Dwukrotnie wyższy udział sumy EPA i DHA w lipidach siei pochodzącej z III partii był wynikiem prawdopodobnie większej zawartości oleju rybiego w paszy używanej do karmienia ryb. Można stwierdzić, że surowiec użyty do wędzenia charakteryzował się wysoką zawartością EPA i DHA, ponieważ bezwzględna zawartość tych kwasów w 100 g tkanki mięśniowej wynosiła od 652 do 952 mg. Według Ruohonen i wsp. [32] sieja, podobnie jak inne ryby łososiokształtne, dobrze toleruje dużą zawartość oleju rybiego w paszy. Uznaje się, że skład diety, a w szczególności jej profil lipidowy ma wpływ na ilość i skład kwasów tłuszczowych lipidów ryb [34].

Na podstawie oznaczonych wskaźników jakościowych lipidów siei można stwierdzić, że był to surowiec o niskiej jakości, z zaawansowanymi zmianami oksydacyjnymi i hydrolitycznymi, w szczególności dotyczyło to III partii. Największa zawartość produktów utlenienia w tej partii wynikała prawdopodobnie z wysokiego udziału PUFA w lipidach, które utleniają się szybciej niż inne kwasy tłuszczowe [9]. Znaczna zawartość lotnych zasad amonowych w tuszach wskazuje na długie składowanie zamrażalnicze surowca, w trakcie którego doszło do niepożądanych zmian w lipidach [17].

Tabela 3

Zawartość wybranych kwasów tłuszczowych w mięsie mrożonej i wędzonej siei.  
Content of selected fatty acids in frozen and smoked whitefish meat.

| Kwasy tłuszczowe<br>Fatty acids          | Partia / Batch I             |                             | Partia / Batch II            |                              | Partia / Batch III           |                               |
|--|------------------------------|-----------------------------|------------------------------|------------------------------|------------------------------|-------------------------------|
|  | mrożona<br>frozen            | wędzona<br>smoked           | mrożona<br>frozen            | mrożona<br>frozen            | wędzona<br>smoked            | mrożona<br>frozen             |
| SFA [%]                                  | 22,18 ±<br>0,27 <sup>a</sup> | 19,1 ±<br>0,24 <sup>b</sup> | 22,47 ±<br>0,28 <sup>a</sup> | 19,31 ±<br>0,26 <sup>b</sup> | 22,16 ±<br>0,29 <sup>a</sup> | 24,29 ±<br>0,25               |
| MUFA [%]                                 | 63,58 ±<br>1,25 <sup>a</sup> | 67,0 ±<br>1,21 <sup>b</sup> | 62,88 ±<br>1,33 <sup>a</sup> | 65,50 ±<br>1,23 <sup>b</sup> | 45,84 ±<br>1,05 <sup>c</sup> | 43,25 ±<br>0,82 <sup>c</sup>  |
| PUFA [%]                                 | 14,24 ±<br>0,55 <sup>a</sup> | 14,0 ±<br>0,48 <sup>a</sup> | 14,65 ±<br>0,59 <sup>a</sup> | 15,19 ±<br>0,49 <sup>a</sup> | 32,00 ±<br>1,15 <sup>b</sup> | 32,46 ±<br>0,98 <sup>b</sup>  |
| EPA + DHA [%]                            | 8,37 ±<br>0,29 <sup>a</sup>  | 8,95 ±<br>0,25 <sup>a</sup> | 9,10 ±<br>0,30 <sup>a</sup>  | 9,56 ±<br>0,28 <sup>a</sup>  | 16,98 ±<br>0,49 <sup>b</sup> | 18,27 ±<br>0,42 <sup>b</sup>  |
| EPA + DHA<br>[mg/100 g tkanki<br>tissue] | 763,5 ±<br>29,5              | 1002 ±<br>35,6 <sup>a</sup> | 952,4 ±<br>32 <sup>b</sup>   | 1096, ±<br>28,3 <sup>a</sup> | 652,3 ±<br>20,1 <sup>a</sup> | 899,0 ±<br>27,51 <sup>b</sup> |

Objaśnienia jak pod tab. 1. / Explanatory notes as in Tab. 1.

Po wędzeniu stwierdzono w rybach większą zawartość tłuszczu, średnio o ok. 10 % (tab. 1). Zaobserwowany wzrost był wynikiem głównie utraty wody podczas ogrzewania oraz, jak sugeruje Larsen i wsp. [19], łatwiejszej, a tym samym efektywniejszej ekstrakcji lipidów z prób po ogrzewaniu. Mimo wysokiego poziomu utlenienia lipidów w surowcu nie stwierdzono strat PUFA po wędzeniu. Wręcz przeciwnie bezwzględna zawartość sumy EPA i DHA w 100 g tkanki mięsnej zwiększyła się i wynosiła średnio 1000 mg (tab. 3). Obserwowany w niniejszej pracy wzrost zawartości sumy EPA i DHA wynikał głównie ze zmian zawartości tłuszczu. Także pewien wpływ na ilość oznaczonego EPA i DHA mogły mieć zmiany w podatności na ekstrakcję lipidów, co miało wpływ na udział i zawartość kwasów tłuszczowych [8]. Brak istotnych strat EPA i DHA w wędzonej na gorąco makreli i w szprocie bałtyckim stwierdzili również Stołyhwo i wsp. [35].

Generalnie można stwierdzić, że niezależnie od wyjściowego poziomu utlenienia lipidów siei, we wszystkich 3 partiach po wędzeniu zaobserwowano zmniejszenie ilości nadtlenków oraz nieznaczny wzrost wtórnych produktów utlenienia i hydrolizy. Mimo obecności chlorku sodu w mięsie ryb, który wykazuje właściwości proutleniające [1], liczba nadtlenkowa (PV) lipidów po wędzeniu była na zbliżonym poziomie

i wynosiła 6 - 9 mEq O<sub>2</sub>/kg lipidów (tab. 4). Tak niski poziom utlenienia lipidów po wędzeniu w porównaniu z surowcem spowodowany był prawdopodobnie ich rozkładem podczas obróbki cieplnej, w temp. 60 °C w komorze i 46 - 51 °C w środku geometrycznym próby. Według Sioen i wsp. [33] produkty reakcji utlenienia powstają w obecności tlenu i w temp. 150 °C.

Nadtlenki są związkami bardzo niestabilnymi i ulegają rozkładowi do wtórnych produktów utlenienia głównie: aldehydów i ketonów, co tłumaczy niewielki wzrost liczby anizydynowej (AsV) w próbach po wędzeniu. Zmiany w dynamice spadku PV i wzrostu AsV pomiędzy poszczególnymi partiami ryb wynikać mogły w pewnym stopniu z różnic w aktywności układu przeciwutleniającego tkanki mięsnej ryb oraz składników dymu wędzarniczego [11, 16]. Wędzenie może przyczynić się zarówno do wzrostu wtórnych produktów utlenienia lipidów, jak i ich spadku [6, 37]. Obserwowany wzrost liczby kwasowej we wszystkich partiach siei po wędzeniu wynikał prawdopodobnie z niepełnej inaktywacji lipaz podczas ogrzewania, ponieważ enzymy te mogą być aktywne nawet w temp. 40 °C [14].

Tabela 4

Wartości liczby nadtlenkowej (PV) [mEq O<sub>2</sub>/kg lipidów], anizydynowej (AsV) i kwasowej (AV) [mg KOH/g] lipidów siei mrożonej i wędzonej.

Peroxide value (PV) [mEq O<sub>2</sub>/kg lipids], anisidine value (AsV), and acid value (AV) [mg KOH/ g] of fat in frozen and smoked whitefish.

| Wskaźnik<br>Indicator | Partia / Batch I  |                         | Partia / Batch II |                         | Partia / Batch III |                   |
|-----------------------|-------------------|-------------------------|-------------------|-------------------------|--------------------|-------------------|
|                       | mrożona<br>frozen | wędzona<br>smoked       | mrożona<br>frozen | mrożona<br>frozen       | wędzona<br>smoked  | mrożona<br>frozen |
| PV                    | 22,5 ± 0,58       | 7,45 ± 0,20             | 17,51 ± 0,35      | 9,36 ± 0,25             | 71,76 ± 5,1        | 5,68 ± 0,16       |
| AsV                   | 5,84 ± 0,06       | 6,4 ± 0,10 <sup>a</sup> | 5,07 ± 0,06       | 6,8 ± 0,05 <sup>a</sup> | 16,76 ± 0,38       | 9,6 ± 0,09        |
| AV                    | 7,17 ± 0,00       | 11,6 ± 0,1              | 6,69 ± 0,01       | 12,2 ± 0,00             | 9,04 ± 0,20        | 10,3 ± 0,05       |

Objaśnienia jak pod tab. 1. / Explanatory notes as in Tab. 1.

W niniejszych badaniach dowiedziono, że lipidy siei niezależnie od wyjściowego poziomu utlenienia są dobrym źródłem długołańcuchowych polienowych kwasów tłuszczowych n-3 (LC n-3 PUFA), ponieważ spożycie już 50 g tkanki mięśniowej ryb zapewnia w 100 % dzienne zapotrzebowanie na te kwasy. Dodatkowo lipidy te bezpośrednio po wędzeniu odznaczają się stosunkowo niskim poziomem utlenienia.



**Charakterystyka mikrobiologiczna**

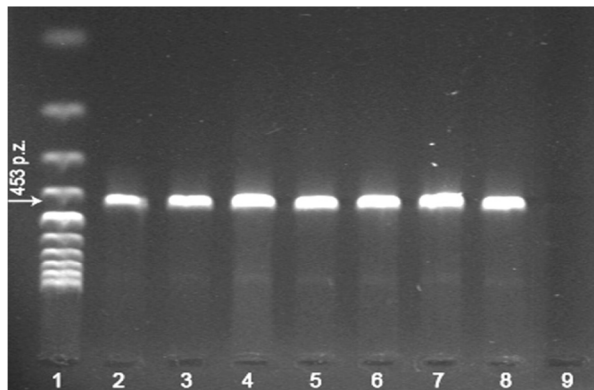
Największy stopień zanieczyszczenia bakteriami psychrofilnymi stwierdzono w partii II zarówno w siei mrożonej, jak i wędzonej, odpowiednio  $6,5 \cdot 10^7$  jtk/g i  $1,7 \cdot 10^7$  jtk/g (tab. 5). Skala zanieczyszczenia tymi bakteriami może wskazywać np. na niewłaściwie przeprowadzoną obróbkę wstępną surowca (patroszenie, filetowanie) bądź niewłaściwe parametry przechowywania lub procesu technologicznego. Badania wykonane w kierunku obecności *L. monocytogenes* wykazały jej obecność w partii III na poziomie  $6 \cdot 10^2$  jtk/g. W 2007 r. kraje Unii Europejskiej przedstawiły informacje o występowaniu *L. monocytogenes* w żywności gotowej do spożycia (ready-to-eat) zawierającej ryby i wędzone produkty rybne. Zbadano 2629 produktów, z których 18,3 % było dodatnich, a w przypadku 2,4 % stwierdzono przekroczenie limitu  $10^2$  jtk/g. W tym badania wykonane w Polsce na 727 próbach wykazały również obecność *L. monocytogenes* w rybach wędzonych (29,6 %), a 0,5 % z nich charakteryzowały się przekroczeniem dopuszczalnego poziomu  $10^2$  jtk/g [10].

Tabela 5

Ogólna liczba bakterii psychrofilnych i *L.monocytogenes* w siei mrożonej i wędzonej.  
Total account of psychrophilic bacteria and *L.monocytogenes* in frozen and smoked whitefish.

| [jtk/g] / [cfu/g]  | Partia / Batch I   |                   | Partia / Batch II |                   | Partia / Batch III |                   |
|--|--------------------|-------------------|-------------------|-------------------|--------------------|-------------------|
|  | mrożona<br>frozen  | wędzona<br>smoked | mrożona<br>frozen | wędzona<br>smoked | mrożona<br>frozen  | wędzona<br>smoked |
| Ogólna liczba bakterii psychrofilnych<br>Total account of psychrophilic bacteria | $>10^3$            | $9 \cdot 10^2$    | $6,5 \cdot 10^7$  | $1,7 \cdot 10^7$  | $8,7 \cdot 10^2$   | $7 \cdot 10^2$    |
| <i>L. monocytogenes</i>  | Nieobecne / Absent |                   |                   |                   |                    | $6 \cdot 10^2$    |

Na podstawie przeprowadzonej identyfikacji biochemicznej stwierdzono obecność bakterii z gatunku *L. monocytogenes* (wszystkie poddane badaniu szczepy wykazywały typowe cechy dla tego gatunku bakterii: hemolizo-dodatnie, ramnozo-dodatnie i ksylozo-ujemne). Po wykonaniu reakcji PCR uzyskano we wszystkich przypadkach produkt wielkości 453 p.z., potwierdzający występowanie chorobotwórczych *L. monocytogenes* (rys. 1).



Rys. 1. Wynik identyfikacji *L. monocytogenes* w reakcji PCR badanych produktów z siei w 1,5 % żelu agarozowym, barwionym bromkiem etydyny: ścieżki: 1 – marker wielkości masowej, 2 – K+ kontrola dodatnia (*L. monocytogenes*), 3 – 8 – *L. monocytogenes* produkt izolowany z siei, 9 – K - kontrola ujemna (bez DNA).

Fig. 1. Result of identifying *L. monocytogenes* during PCR of whitefish products analyzed in 1.5 % agarose gel stained with ethidium bromide: paths: 1 – mass size marker; 2 – K + positive control (*L. monocytogenes*); 3 – 8 – *L. monocytogenes* products isolated from whitefish; 9 – K - negative control (without DNA).

Badania przeprowadzone na próbach siei mrożonej nie wykazały obecności pałeczek *L. monocytogenes*. Można przypuszczać, że pojawienie się tych bakterii w produkcie gotowym – siei wędzonej może być spowodowane zanieczyszczeniami powierzchni w zakładach przetwórczych, z którymi „styka się” produkt [29], bądź zaniedbaniami podczas procesu wędzenia czy pakowania gotowego produktu. Zgodnie z najnowszymi wytycznymi [30], dotyczącymi kryteriów mikrobiologicznych żywności, nie ma obowiązku badania wędzonych ryb w kierunku obecności *L. monocytogenes*, mimo że jest coraz więcej doniesień o występowaniu tych bakterii w produktach wędzonych. Ze względu na przeżywalność chorobotwórczych *L. monocytogenes* w procesie gorącego i zimnego wędzenia konieczne jest prowadzenie monitoringu mikrobiologicznego również tych produktów rybnych.

### Wnioski

1. Proces wędzenia wpłynął na poprawę jakości mrożonej siei. Stwierdzono zmniejszenie ilości azotu lotnych zasad amonowych, trimetyloaminy oraz amoniaku, wskazujących na jakość produktu.
2. Wędzona sieja jest bogatym źródłem długołańcuchowych polienowych kwasów tłuszczowych n-3 (LC n-3 PUFA), niezależnie od poziomu utlenienia i hydrolizy lipidów stwierdzonych w surowcu mrożonym.
3. Wędzenie nie spowodowało znacznego wzrostu utlenienia LC n-3 PUFA.

4. Dostępne na rynku ryby wędzone mogą być źródłem chorobotwórczej bakterii *L. monocytogenes*, dlatego należałoby wprowadzić obowiązkowy monitoring mikrobiologiczny tych przetworów.

*Praca finansowana ze środków Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego w ramach projektu badawczego nr N N312 234438.*

### Literatura

- [1] Andersen E., Andresen M., Baron C.P.: Characterization of oxidative changes in salted herring (*Clupea harengus*) during ripening. *J. Agric. Food Chem.*, 2007, **55**, 9545-9553.
- [2] AOAC: Official Methods of Analysis, 15th ed. Association of Official Analytical Chemists, Washington DC, 1990.
- [3] Bligh E.G., Dyer W.J.: A rapid method of total lipid extraction and purification. *Can. J. Biochem. Physiol.*, 1959, **37**, 911-917.
- [4] Connell J.J.: Methods of assessing and selecting for quality. In: Control of fish quality (3<sup>rd</sup> Ed.), Fishing News Books. Oxford, 1990, pp. 122-150.
- [5] Conway E.J.: Microdiffusion Analysis and Volumetric Error. Crosby Lockwood London 1947.
- [6] Cuppett, S.L., Gray, J.I., Booren, A.M., Price, J.F., Stachiw, M.A.: Effect of processing variables on lipid stability in smoked Great Lakes whitefish. *J. Food Sci.*, 1989, **54**, 52-54.
- [7] Czerniejewski P.: Gospodarka koregonidami w jeziorach zachodniopomorskich w 2000 roku. *Maga- zyn Przemysłu Rybnego*, 2002, **1 (25)**, 23-25.
- [8] Domiszewski Z., Bienkiewicz G.: Porównanie metod przygotowania estrów metylowych kwasów tłuszczowych wg AOAC oraz metodą bezpośrednią przy oznaczaniu składu kwasów tłuszczowych tkanki mięsnej ryb. *Folia Pomer. Univ. Technol. Stetin.*, 2010, **16**, 19-30.
- [9] Drozdowski B.: Lipidy. W: Chemiczne i funkcjonalne składniki żywności – pod red. Z. E. Sikorskiego. WNT, Warszawa 1996, ss. 167-232.
- [10] EFSA 2009: The community summary report on trends and sources of zoonoses and zoonotic agents in the European Union in 2007. *The EFSA Journal*: 223.
- [11] Gomez-Guillen, M.C., Montero M.P.: Polyphenol uses in seafood conservation. *Am. J. Food Technol.*, 2007, **2**, 593-601.
- [12] Goulas A.E., Kontominas M.G.: Effect of salting and smoking method on the keeping quality of chub mackerel (*Scomber japonicus*): biochemical and sensory attributes. *Food Chem.*, 2005, **93**, 511-520.
- [13] Huss H.H.: Fresh fish quality and quality changes. Danish International Development Agency, FAO. Rome, 1998, pp. 43-45.
- [14] Islam M.A., Pervin F., Hossain K., Khatun S., Karim Md. R., Kim G. S. Absar N., Haque Md. S.: Purification and biochemical characterization of lLipase from the dorsal part of *Cirrhinus reba*. *Thai J. Agric. Sci.*, 2009, **42**, 71-80.
- [15] Kim Y.M., Paik H.-D., Lee D.S.: Shelf-life characteristics of fresh oysters and ground beef as affected by bacteriocin-coated plastic packaging film. *J. Sci. Food Agric.*, 2002, **82**, 998-1002.
- [16] Kołakowska A.: Lipid Oxidation in Food Systems. In: Z. Sikorski and A. Kołakowska (Eds.), Properties of Food Lipids. CRC Press. USA, 2003, pp. 133-166.
- [17] Kołakowski E.: Technologia farszów rybnych. PWN, Warszawa 1986.

- [18] Koral S., Köse S., Tufan B.: Investigating the quality changes of raw and hot smoked garfish (*Belone belone euxini*, Günther, 1886) at ambient and refrigerated temperatures. *Tur. J. Fish. Aqua. Sci.*, 2009, **9**, 53-58.
- [19] Larsen D., Quek S.Y., Eyres L.: Effect of cooking method on the fatty acid profile of New Zealand King Salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*). *Food Chem.*, 2010, **119**, 785-790.
- [20] Lopez-Caballero M.E., Perez-Mateos M., Montero P., Borderias A.J.: Oyster preservation by high-pressure treatment. *J. Food Prot.*, 2000, **63**, 196-201.
- [21] Metin S., Erkan N., Varlik C., Aran N.: Extension of shelf life of chub mackerel (*Scomber japonicus*, Houttuyn 1780) treated with lactic acid. *Eur. Food Res. Tech.*, 2001, **213**, 174-177.
- [22] PN-85/A-86752. Ryby i inne zwierzęta wodne świeże i mrożone. Pobieranie próbek.
- [23] PN-90/A-75052/05. Przetwory owocowe, warzywne i warzywno-mięsne. Metody badań mikrobiologicznych. Oznaczenie obecności i liczby drobnoustrojów tlenowych mezofilnych i psychrofilnych.
- [24] PN-EN ISO 11290-2:2000/A1:2005. Mikrobiologia żywności i pasz. Horyzontalna metoda wykrywania obecności i oznaczania liczby *Listeria monocytogenes*. Metoda oznaczania liczby.
- [25] PN-EN ISO 660:2010. Oleje i tłuszcze roślinne oraz zwierzęce. Oznaczanie liczby kwasowej i kwasowości.
- [26] PN-EN ISO 6885:2008. Oleje i tłuszcze roślinne oraz zwierzęce. Oznaczanie liczby anizydynowej.
- [27] PN-ISO 3960:1996. Oleje i tłuszcze roślinne oraz zwierzęce. Oznaczanie liczby nadtlenukowej.
- [28] Quinton C., Kause A., Ruohonen K., Koskela J.: Genetic relationships of body composition and feed utilization traits in European whitefish (*Coregonus lavaretus* L.) and implications for selective breeding in fishmeal- and soybean meal-based diet environments. *J. Animal Sci.*, 2007, **85**, 3198-3208.
- [29] Rorvick L. M.: *Listeria monocytogenes* in the smoked salmon industry. *Int. J. Food Microbiol.*, 2000, **62**, 183-190.
- [30] Rozporządzenie Komisji (WE) nr 1441/2007 z dnia 5 grudnia 2007 r. w sprawie kryteriów mikrobiologicznych dotyczących środków spożywczych. *Dz. U.* 2007 r. Nr 61, poz 417.
- [31] Rozporządzenie Komisji (WE) nr 2074/2005 z dnia 5 grudnia 2005 r. ustanawiające środki wykonawcze w odniesieniu do niektórych produktów objętych rozporządzeniem (WE) nr 853/2004 i do organizacji urzędowych kontroli na mocy rozporządzeń (WE) nr 854/2004 oraz (WE) nr 882/2004, ustanawiające odstępstwa od rozporządzenia (WE) nr 852/2004 i zmieniające rozporządzenia (WE) nr 853/2004 oraz (WE) nr 854/2004.
- [32] Ruohonen K., Koskela J., Vielma J., Kettunen J.: Optimal diet composition for mixture model trials. *Aquaculture*, 2003, **225**, 27-39.
- [33] Sioen I., Haak L., Raes K., Hermans C., De Henauw S., De Smet S., Van Camp J.: Effects of pan-frying in margarine and olive oil on the fatty acid composition of cod and salmon. *Food Chem.*, 2006, **98**, 609-617.
- [34] Steffens W.: Effects of variation feeds on nutritive in essential fatty acids in fish value of freshwater fish for humans. *Aquaculture*, 1997, **151**, 97-119.
- [35] Stolyhwo A., Kolodziejska I., Sikorski, Z.E.: Long chain polyunsaturated fatty acids in smoked Atlantic mackerel and Baltic sprats. *Food Chem.*, 2006, **94**, 589-595.
- [36] Tauer L., Nightingale C., Ivanek R., Wiedmann M.: Optimal levels of inputs to control *Listeria monocytogenes* contamination at a smoked fish plant. The American Agricultural Economics Association Annual Meeting, Providence, Rhode Island, June 2005, pp. 25-27.
- [37] Vasiliadou S., Ambrosiadis I., Varelzits K., Fletouris, D., Gavriilidou, I.: Effect of smoking on quality parameters of farmed gilthead sea bream (*Sparus aurata*) and sensory attributes of the smoked product. *Eur. Food Res. Technol.*, 2005, **221**, 232-236.

**CHANGES IN SELECTED CHEMICAL AND MICROBIOLOGICAL INDICATORS DURING WARM SMOKING PROCESS OF THAWED WHITEFISH (*COREGONIS CLUPEIFORMIS*)**

## S u m m a r y

In the paper, determined was the effect of smoking process on the quality of smoked whitefish (*Coregonis clupeaformis*) manufactured from a frozen raw material of a decreased quality. Analyzed were four batches of frozen fish imported from Canada. The condition of raw material was determined using chemical and microbiological analyses. Only in three fish batches, the content of N-TVBA was less than 35 mg/100 g. Advanced oxidation and hydrolytic changes were found, in particular, in the third batch. No rod-shaped *L. monocytogenes* were found in the frozen raw material. Upon the smoking process finished, the following was found: the content of protein and lipids increased, the level of primary lipid oxidation products decreased, the level of secondary lipid oxidation products increased, the amount of PUFA increased, and the content of N-LZA, N-TMA, and N-NH<sub>3</sub> decreased; the *L. monocytogenes* was found only in batch III.

**Key words:** whitefish, freezing, smoking, quality ☒