

ANNA BAGNOWSKA, LUCJAN KRALA, AGNIESZKA NOWAK,
JOANNA ORACZ

WŁAŚCIWOŚCI PRZECIWUTLENIAJĄCE CHITOZANU W KIELBASACH BEZ DODATKU AZOTANU(III)

Streszczenie

Przesłanki teoretyczne wskazują, że dzięki dobrym właściwościom przeciwutleniającym chitozan może wchodzić w skład zestawu dodatków pozwalających na wyeliminowanie azotanu(III) z produkcji kielbas. Aktywność przeciwutleniająca chitozanu zależy od sposobu jego pozyskania, budowy cząsteczkowej oraz od właściwości materiału biologicznego, do którego został dodany.

Celem niniejszej pracy było określenie skuteczności przeciwutleniającej chitozanu o różnej masie cząsteczkowej, dodanego wraz z likopenem do wieprzowych kielbas średniorozdrobnionych, przechowywanych w warunkach chłodniczych przez 35 dni.

Właściwości przeciwutleniające chitozanu określono na podstawie wartości AV, zawartości MDA i kwasów tłuszczowych oraz parametrów barwy. Stwierdzono, że chitozan o masie cząsteczkowej $135 \cdot 10^3$ Da charakteryzował się najsilniejszym oddziaływaniem przeciwutleniającym. Wraz z likopenem spełniał on funkcję ochronną przed zmianami oksydacyjnymi w kielbasach, w podobnym zakresie jak składniki tradycyjnej mieszanki peklowanej. Natomiast chitozan o masie cząsteczkowej $68 \cdot 10^3$ Da wykazywał najsłabsze właściwości przeciwutleniające. Zmniejszenie zawartości kwasów PUFA w kielbasie z dodatkiem chitozanu o masie cząsteczkowej $68 \cdot 10^3$ Da było około dwukrotnie większe (2,1 mg/g tłuszczu) niż w kielbasie z dodatkiem chitozanu o masie cząsteczkowej $135 \cdot 10^3$ Da (1,1 mg/g tłuszczu). Stosunek kwasów tłuszczowych z szeregu *n-6* do *n-3* w badanych kielbasach był trzykrotnie wyższy niż pożądanym (12,9 - 16,3) i był charakterystyczny dla mięsa wieprzowego.

Słowa kluczowe: chitozan, kielbasy średniorozdrobnione, kwasy tłuszczowe, peklowanie

Wprowadzenie

Chitozan jest łańcuchowym poliaminosacharydem otrzymywanym w reakcji deacetylacji chityny. Jego źródłem są przede wszystkim skorupiaki. Taki chitozan wystę-

Mgr inż. A. Bagnowska, dr hab. inż. L. Krala, mgr inż. J. Oracz, Instytut Chemicznej Technologii Żywności, ul. Stefanowskiego 4/10, dr inż. A. Nowak, Instytut Technologii Fermentacji i Mikrobiologii, Wydz. Biotechnologii i Nauk o Żywności, Politechnika Łódzka, ul. Wólczańska 171/173, 90-924 Łódź. Kontakt: anna.bagnowska1@gmail.com

puje w postaci kompleksów z białkami, lipidami, barwnikami oraz solami mineralnymi [1]. Czysty polimer można otrzymać z alg morskich *Cylotella cryptica* oraz *Thalassiosira fluviatilis*. Bogatym źródłem chitozanu są także grzyby strzępkowe z klasy *Zygomycetes* [20].

Chitozan jest związkiem nietoksycznym, biodegradowalnym, biofunkcyjnym i biokompatybilnym. Istotną zaletą chitozanu jest to, że nie jest metabolizowany w przewodzie pokarmowym człowieka i może pełnić funkcję błonnika pokarmowego. Związek ten wykazuje również zdolność redukcji poziomu cholesterolu nawet o 20 – 30 % w organizmie człowieka [15, 19].

Aktywność przeciwutleniającą chitozanu w roztworach modelowych analizowano w wielu ośrodkach badawczych. Wykazano m.in., że dawka 0,1 mg/ml charakteryzowała się 50-procentową aktywnością [10]. Natomiast w badaniach właściwości przeciwutleniających chitozanu o różnym pochodzeniu udowodniono ścisłą zależność jego aktywności od stężenia w roztworze modelowym. Przy stężeniu 0,5 mg/ml aktywność przeciwutleniająca była niska i wynosiła $19,1 \div 29,8$ %, natomiast przy stężeniu 25 mg/ml wynosiła aż $85,4 \div 94,7$ % [15]. W badaniach *in vitro* wykazano również wpływ masy cząsteczkowej chitozanu na jego aktywność przeciwutleniającą [23]. Yen i wsp. [24, 25] także w badaniach roztworów modelowych wykazali wpływ stopnia deacetylacji chitozanu na jego właściwości przeciwutleniające, niezależnie od jego pochodzenia. Dotychczas nie badano jednak właściwości przeciwutleniających chitozanu dodanego do wieloskładnikowych produktów żywnościowych, w tym kielbas.

Likopen jest naturalnym barwnikiem, syntetyzowanym przez rośliny oraz mikroorganizmy, ale nie przez zwierzęta. Najbogatszym źródłem likopenu są pomidory. Unikatowe właściwości chemiczne likopenu związane są z jego budową. Jest on liniowym karotenoidem o 11 sprzężonych wiązaniach podwójnych, co czyni go związkiem silnie hydrofobowym. Ochronne działanie likopenu jest częściowo przypisywane jego właściwościom przeciwutleniającym i/lub zdolnościom inaktywowania tlenu singletowego. Likopen chroni organizm ludzki przed wieloma czynnikami chorobotwórczymi [14].

Celem badań było wykazanie przeciwutleniającego działania chitozanu na kielbasy wieprzowe, określenie wpływu masy cząsteczkowej na jego aktywność oraz podjęcie próby zastąpienia funkcji przeciwutleniającej i barwotwórczej azotanu(III) w kielbasach przez dodatek chitozanu i likopenu.

Material i metody badań

Material badany stanowiły kielbasy wieprzowe, średniorozdrobnione, wędzone, otrzymane w warunkach laboratoryjnych z mięsa wieprzowego (klasa 1, 2a i 2b), solonego, z dodatkiem chitozanu i likopenu. Udział mięsa wieprzowego poszczególnych klas podano w tab. 1. Do rozdrobnionego mięsa, z wyjątkiem prób kontrolnych, doda-

wano chitozan o różnej średniej masie cząsteczkowej, wynoszącej $135 \cdot 10^3$ Da, $68 \cdot 10^3$ Da, $45 \cdot 10^3$ Da oraz likopen (w celu uzyskania pożądanej barwy gotowego wyrobu). W doświadczeniach użyto chitozanu o nazwie handlowej Primex III Fg 90 ($135 \cdot 10^3$ Da), produkcji islandzkiej firmy Primex. W celu zróżnicowania masy cząsteczkowej chitozan Primex III Fg 90 poddawano działaniu promieniowania jonizującego o dawce 14 kGy lub 25 kGy. Po obróbce radiacyjnej otrzymano dwie nowe frakcje chitozanu o średniej masie cząsteczkowej $68 \cdot 10^3$ Da oraz $45 \cdot 10^3$ Da. Średnią masę cząsteczkową trzech chitozanów określano na podstawie analizy chromatograficznej GPC, wykonanej w Instytucie Biopolimerów i Włókien Chemicznych w Łodzi. Analizowane frakcje chitozanów charakteryzowały się takim samym stopniem deacetylacji wynoszącym 82 % (deklaracja producenta). Próby kontrolne (A) stanowiły kiełbasy otrzymane z mięsa peklowanego w sposób tradycyjny, z wykorzystaniem typowej, azotanowej(III) mieszanki peklującej (peklosoli) [16]. W pozostałych wariantach zamiast peklosoli użyto soli warzonki.

Tabela 1. Udział mięsa wieprzowego poszczególnych klas w farszu kiełbas doświadczalnych.
Table 1. Content of pork meat of respective classes in batter of experimental sausages

Surowiec Raw	Udział surowca [%] Percent content of raw material [%]
Mięso wieprzowe klasa 1 Pork of class 1	10
Mięso wieprzowe klasa 2a Pork class 2a	60
Mięso wieprzowe klasa 2b Pork of class 2b	30

Warianty kiełbas doświadczalnych oznaczono symbolami:

- A – kiełbasa kontrolna wytworzona z mięsa wieprzowego peklowanego tradycyjną mieszanką peklującą, zawierającą azotan(III),
- B – kiełbasa wytworzona z mięsa wieprzowego solonego z dodatkiem chitozanu o średniej masie cząsteczkowej $135 \cdot 10^3$ Da i likopenu,
- C – kiełbasa wytworzona z mięsa wieprzowego solonego z dodatkiem chitozanu o średniej masie cząsteczkowej $68 \cdot 10^3$ Da i likopenu,
- D – kiełbasa wytworzona z mięsa wieprzowego solonego z dodatkiem chitozanu o średniej masie cząsteczkowej $45 \cdot 10^3$ Da i likopenu.

Mięso wieprzowe, w ustalonych proporcjach masowych (tab. 1), wstępnie rozdrabniano w wilku przez szarpak (typ PM-70, firmy MAINCA), dodawano do niego wodę, mieszankę peklującą lub sól, chitozan i likopen, w zależności od wariantu kiełbas (tab. 2), dokładnie mieszano z użyciem mieszalnika (typ RM-20, firmy MAINCA) i pozostawiano na 24 h w komorze chłodniczej o temp. $2 \div 4$ °C. Po tym czasie do

każdego farszu dodawano przyprawy smakowe (pieprz czarny mielony i czosnek – tab. 2). Każdy farsz dokładnie mieszano i napelniano nim osłonki naturalne o średnicy 28 ÷ 30 mm, przy użyciu nadziewarki (typ EC-12, firmy MAINCA).

Tabela 2. Ilość dodatków w farszu kielbas doświadczalnych.
Table 2. Amount of additives in batter of experimental sausages.

Składnik Component	Kielbasa / Sausage			
	A	B	C	D
	Ilość dodatku [g/100 g mięsa] Amount of additive [g/100 g meat]			
Sól Salt	-	1,802	1,802	1,802
Peklosól Curing salt	1,802	-	-	-
Woda Water	15,4	15,4	15,4	15,4
Chitozan 135·10 ³ Da Chitosan 135·10 ³ Da	-	0,173	-	-
Chitozan 68·10 ³ Da Chitosan 68·10 ³ Da	-	-	0,173	-
Chitozan 45·10 ³ Da Chitosan 45·10 ³ Da	-	-	-	0,173
Likopen Lycopene	-	0,029	0,029	0,029
Pieprz mielony Ground pepper	0,193	0,193	0,193	0,193
Czosnek Garlic	0,385	0,385	0,385	0,385

Gotowe kielbasy wieszano na kijach wędzarniczych w celu osadzenia. Wszystkie kielbasy wędzono w tradycyjnym dymie olchowo-bukowym, w komorach wędzarniczo-parzelniczych, w Zakładzie Mięsnym „SuperDrob” w Łodzi. Obróbkę termiczną kończono po osiągnięciu wewnątrz batonów kielbas temp. 72 °C. Po zakończeniu wędzenia i parzenia kielbasy chłodzono pod natryskiem zimnej wody, a następnie przez owiewanie zimnym powietrzem do temp. 4 °C wewnątrz batonów. Po schłodzeniu poszczególne kielbasy pakowano próżniowo i przechowywano w komorze chłodniczej o temp. 3 ± 1 °C, w Zakładzie Technologii Chłodnictwa Żywności PŁ, przez pięć tygodni.

Zakres zmian oksydacyjnych i parametrów barwy kielbas doświadczalnych oceniano zaraz po schłodzeniu, następnie po 7, 21, 28 i 35 dobach przechowywania, na podstawie wyników analiz stężenia dialdehydu malonowego (MDA) [5], wartości liczby anizydynowej (AV) [17], profilu kwasów tłuszczowych metodą chromatografii

gazowej (GC) [4] oraz parametrów barwy w systemie CIE L*a*b*, mierzonych przy użyciu kolorymetru Konica Minolta CR-400. W każdym terminie badań, z każdego wariantu kielbas do analiz pobierano po pięć próbek.

W celu dokonania analizy zmian oksydacyjnych i profilu kwasów tłuszczowych badane kielbasy rozdrabniano i suszono w liofilizatorze firmy CHRIST typ Delta 1-24 LSC, do końcowej zawartości wody 1 %. Przed liofilizacją próby mrożono przez 24 h w temp. -50 °C, w celu stabilizacji temperatury w całej objętości próbki. Zasadniczy etap liofilizacji prowadzono przy ciśnieniu 0,340 ÷ 0,430 mbar i temp. 40 °C, zaś dosuszanie przy ciśnieniu 0,050 mbar i temp. 50 °C. Z liofilizatów ekstrahowano tłuszcz do analiz w aparacie Soxtec 2055, stosując jako rozpuszczalnik eter naftowy. Całkowity czas ekstrakcji wyniósł 1,5 h.

Analizę profilu kwasów tłuszczowych wykonywano przy użyciu chromatografu gazowego Varian 450-GC, z detektorem FID. Zastosowano kolumnę FactorFour VF-23 ms o wymiarach: długość 60 m, średnica wewnętrzna: 0,25 mm. Temperatura dozwornika wynosiła 220 °C, a detektora – 250 °C. Objętość próbki wynosiła 1 µl. Gazem nośnym był hel o objętościowym natężeniu przepływu 1 cm³/min.

Kąt tonu barwy (h) obliczano z równania:

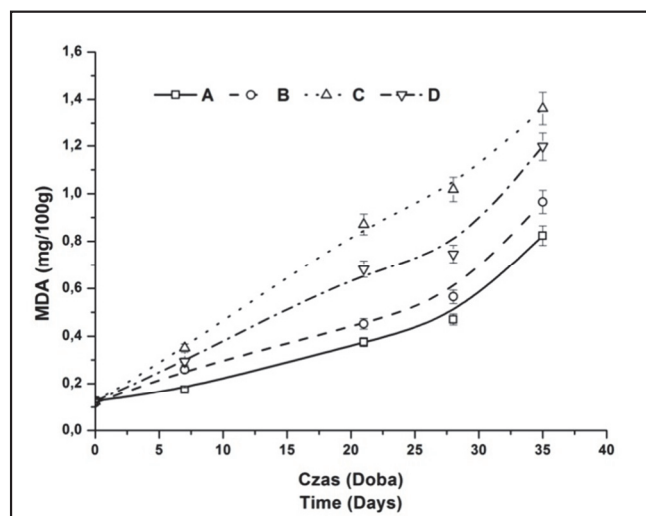
$$h = \frac{180}{\pi} \operatorname{tg}^{-1} \left(\frac{b^*}{a^*} \right)$$

W celu ustalenia istotności różnic pomiędzy wynikami analiz wykonano jedno- i dwuczynnikową analizę wariancji oraz test istotności różnic NIR, na poziomie istotności p = 0,05, przy użyciu programu Statistica, wersja 10.

Wyniki i dyskusja

Dobrym odzwierciedleniem stopnia zaawansowania zmian oksydacyjnych przetworów mięsnych, w tym kielbas, jest stężenie dialdehydu malonowego (MDA) oraz wartość liczby anizydynowej (AV), jako wskaźniki nagromadzenia wtórnych produktów oksydacji lipidów. Wyniki analiz tych wskaźników przedstawiono na rys. 1 i 2. Stwierdzono stopniowy wzrost zawartości dialdehydu malonowego we wszystkich kielbasach doświadczalnych (rys. 1). Najmniejszą zawartość MDA przez cały okres wykonywania analiz oznaczono w wariacie kielbasy A. Po porównaniu kielbas wytworzonych z mięsa solonego z dodatkiem różnego rodzaju chitozanów stwierdzono, że przed zmianami oksydacyjnymi najlepiej zabezpiecza je chitozan o masie cząsteczkowej 135 10³ Da (wariant B), zaś najslabiej – chitozan o masie cząsteczkowej 68 10³ Da (wariant C). Zmiany zawartości MDA w kielbasach A i B następowały podobnie, lecz różniły się od zmian stwierdzonych w kielbasach C i D. W przypadku liczby anizydynowej także wykazano stopniowy jej wzrost, przy czym w próbach A i B następował on z podobną szybkością (rys. 2). Przez cały okres przechowywania

najniższą wartość AV stwierdzono w próbie A, natomiast najwyższa utrzymywała się w próbie C. Zatem uzyskane wyniki potwierdzają hipotezę, że właściwości przeciwutleniające chitozanu zależą od jego masy cząsteczkowej. Chitozan o najwyższej z badanych średniej masy cząsteczkowej ($135 \cdot 10^3$ Da) najlepiej chronił kielbasy przed zmianami oksydacyjnymi. Powyższe wyniki są odmienne od wyników badań innych autorów, wykonanych w układach modelowych [21, 22].

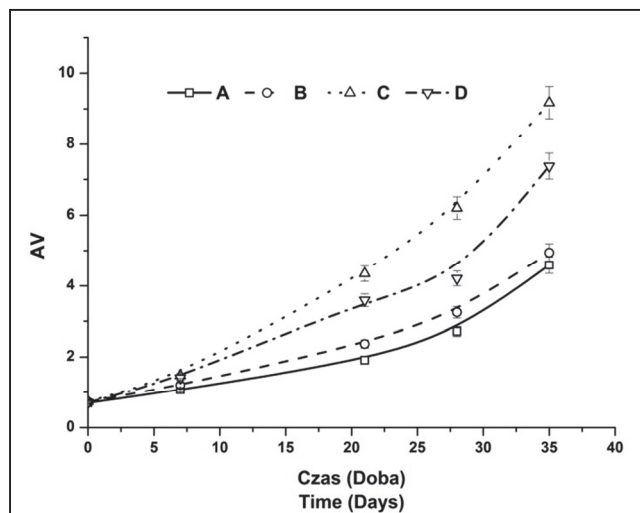


Rys. 1. Zmiany zawartości dialdehydu malonowego w tłuszczu przechowywanych kielbas doświadczalnych.

Fig. 1. Changes in concentration of malondialdehyde (MDA) in fat of experimental sausages stored.

Różnica ta potwierdza jednocześnie istotne znaczenie właściwości środowiska, tzn. materiału biologicznego, do którego został dodany chitozan. Na właściwości przeciwutleniające chitozanu wpływ mogły mieć również ewentualne interakcje między chitozaniem a likopenem, o udokumentowanych zdolnościach przeciwutleniających [14].

Udział najważniejszych pod względem walorów żywieniowych kwasów tłuszczowych, w poszczególnych grupach kwasów tłuszczowych, to jest kwasów nasyconych (SFA), nienasyconych (UFA) oraz wielonienasyconych (PUFA), przedstawiono w tab. 3., a w tab. 4. – zawartość głównych kwasów tłuszczowych, które występowały w największych ilościach w przechowywanych kielbasach doświadczalnych.



Rys. 2. Zmiany wartości liczby anizydynowej (AV) w tłuszczu kiełbas doświadczalnych.
 Fig. 2. Changes in anisidine number value (AV) in fat of experimental sausages.

Porównując wyniki analiz wszystkich badanych wariantów kiełbas doświadczalnych można stwierdzić, że kwas oleinowy (C18:1) miał największy udział w całej puli kwasów tłuszczowych. Na początku okresu przechowywania kiełbas stanowił, w zależności od wariantu doświadczalnego, od 38,3 do 39,8 % ogólnej ilości kwasów tłuszczowych. Zatem można stwierdzić, że kwas C18:1 był głównym kwasem nienasyconym (UFA) zawartym w tłuszczu doświadczalnych kiełbas średnio rozdrobnionych. Oznaczone zawartości kwasu C18:1 są zgodne m.in. z wcześniejszymi wynikami Aguiary i wsp. [3]. Wśród nasyconych kwasów tłuszczowych (SFA) dominującym był kwas palmitynowy (C16:0). Bezpośrednio po wytworzeniu kiełbas stanowił $32,1 \div 32,4$ % ogólnej ilości kwasów tłuszczowych tłuszczu kiełbas. Wartość ta jest wprawdzie wyższa od wartości podawanych przez innych badaczy [3, 6, 7, 11, 18], lecz charakterystyczna dla składu surowcowego wsadu mięsnego w kiełbasach doświadczalnych, tzn. mięsa wieprzowego. Głównym związkiem z grupy kwasów wielonienasyconych (PUFA) był kwas linolowy (C18:2). Po wytworzeniu kiełbas stanowił on $7,4 \div 8,0$ % ogólnej zawartości kwasów tłuszczowych. Zbliżone wyniki przedstawili inni badacze [6, 11, 12, 18]. Stosunek PUFA z szeregu $n-6$ do $n-3$ w badaniach własnych był około trzykrotnie większy od wartości zalecanej przez dietetyków [2, 8]. Zawartość izomerów *trans* kwasów tłuszczowych w tłuszczu bezpośrednio po wytworzeniu kiełbas doświadczalnych była korzystnie mała i wynosiła $0,28 \div 0,31$ %. Porównanie zawartości kwasów nasyconych (SFA), nienasyconych (UFA) oraz wielonienasyconych (PUFA) w tłuszczu przechowywanych kiełbas wskazuje na najkorzystniejsze działanie przeciwutleniające chitozanu o najwyższej ($135 \cdot 10^3$ Da) masie

cząsteczkowej (kielbasa B). Dodatek tego chitozanu wpłynął na ochronę kielbas doświadczalnych przed utlenianiem zawartego w nich tłuszczu w podobny sposób jak azotan(III) obecny w składzie tradycyjnej mieszanki peklującej (kielbasa A). W miarę upływu czasu przechowywania kielbas zawartość w nich SFA stopniowo zwiększała się. Największy wzrost zawartości SFA stwierdzono w kielbasie C wytworzonej z mięsa peklowanego z dodatkiem chitozanu o średniej masie molekularnej ($68 \cdot 10^3$ Da) i likopenu. Natomiast najmniejszy wzrost zawartości kwasów tłuszczowych SFA wykazano w kielbasach A i B. Podobne tendencje dotyczą zmian zawartości głównego SFA, to jest kwasu tłuszczowego C16:0. Zaobserwowano, że w miarę wydłużania okresu przechowywania kielbas doświadczalnych względna zawartość nienasyconych kwasów tłuszczowych UFA w tłuszczu powoli malała, co wskazuje na postęp zmian oksydacyjnych. Relatywnie największe zmniejszenie zawartości UFA stwierdzono w tłuszczu kielbas C. W kielbasach kontrolnych (A) wykazano o połowę mniejsze zmiany zawartości kwasów tłuszczowych UFA. W kielbasie B zmiany zawartości kwasów tłuszczowych UFA były nieznacznie większe niż w próbie kontrolnej, jednak różnica nie była statystycznie istotna ($p \leq 0,05$). Zmiany zawartości kwasu tłuszczowego C18:1, głównego reprezentanta grupy kwasów UFA w tłuszczu kielbas doświadczalnych, kształtowały się podobnie do zmian zachodzących w całej grupie. W trakcie przechowywania analizowanych kielbas zmiany zawartości kwasu C18:2 kształtowały się w podobny sposób jak ogólna zawartość PUFA. Najmniejsze zmiany zawartości kwasu C18:2 wykazano w tłuszczu kielbas B, zaś największe zmniejszenie – w przypadku kielbas C. Najmniej zmniejszyła się zawartość całej puli kwasów wielonienasyconych (PUFA) w trakcie przechowywania kielbasy kontrolnej (A). Oznacza to, że dodatek azotanu(III) do mięsa w największym stopniu wpływał na ochronę wytworzonej z niego kielbasy przed zmianami oksydacyjnymi. Pod tym względem efektywność dodatku chitozanu o najwyższej masie cząsteczkowej (wariant kielbas B) była mniejsza. Głównym przedstawicielem PUFA z szeregu kwasów tłuszczowych *n-3*, występujących w badanych kielbasach, był kwas α -linolenowy (C18:3). Zmniejszenie zawartości tego kwasu podczas chłodniczego przechowywania kielbas we wszystkich porównywanych przypadkach przebiegało w podobny sposób. W stosunku do prób kontrolnych (A) różnice nie były statystycznie istotne ($p \leq 0,05$). Stosunek kwasów tłuszczowych z szeregu *n-6* do kwasów tłuszczowych PUFA z szeregu *n-3* przez cały okres przechowywania kielbas pozostawał na wysokim poziomie i wynosił od 12,8 do 15,1. Po pięciu tygodniach przechowywania najkorzystniejszy stosunek *n-6/n-3* zaobserwowano w próbach B i A. Iloraz ten był jednak dwukrotnie wyższy od wartości zalecanej przez dietetyków [2, 8]. W tłuszczu kielbas doświadczalnych, z wyjątkiem próby C, przez cały okres przechowywania zawartość izomerów *trans* kwasów

Tabela 3. Zawartość wybranych grup kwasów tłuszczowych podczas przechowywania kielbas doświadczalnych [mg/g tłuszczu].

Table 3. Content of selected groups of fatty acids while storing experimental sausages [mg/g fat].

Kwasy tłuszczowe Fatty acids	Wariant kielbasy Sausage variant	Czas [doba] Time [day]				
		0	7	21	28	35
SFA	A	47,0 ^a ± 1,5	47,7 ^a ± 1,6	47,7 ^a ± 1,6	48,5 ^a ± 1,5	49,3 ^a ± 1,5
	B	47,1 ^a ± 1,7	47,2 ^a ± 1,8	47,8 ^a ± 1,8	48,5 ^a ± 1,7	49,5 ^a ± 1,5
	C	43,4 ^b ± 1,8	44,5 ^b ± 1,6	47,1 ^a ± 1,6	48,6 ^a ± 1,8	50,4 ^c ± 1,3
	D	46,4 ^a ± 1,6	48,1 ^a ± 1,9	49,2 ^a ± 1,9	49,9 ^a ± 1,6	49,5 ^a ± 1,7
UFA	A	52,4 ^a ± 1,8	51,5 ^a ± 2,0	51,0 ^a ± 1,8	50,7 ^b ± 1,7	49,4 ^b ± 1,6
	B	53,3 ^a ± 1,9	53,0 ^a ± 1,7	52,0 ^a ± 2,1	51,5 ^a ± 1,9	50,2 ^b ± 1,9
	C	54,7 ^a ± 1,5	52,8 ^a ± 1,8	50,7 ^b ± 1,8	49,8 ^b ± 1,7	47,9 ^b ± 1,7
	D	54,9 ^a ± 1,9	52,7 ^a ± 1,9	52,6 ^a ± 1,7	52,3 ^a ± 2,1	50,5 ^b ± 2,0
MUFA	A	44,5 ^a ± 1,4	43,8 ^a ± 1,5	43,4 ^a ± 1,4	43,4 ^a ± 1,7	42,8 ^b ± 1,3
	B	44,6 ^a ± 1,7	44,5 ^a ± 1,4	44,4 ^a ± 1,3	43,8 ^a ± 1,6	42,7 ^b ± 1,6
	C	45,9 ^a ± 1,5	44,3 ^a ± 1,6	42,6 ^b ± 1,6	42,1 ^b ± 1,4	41,1 ^b ± 1,5
	D	45,7 ^a ± 1,7	44,8 ^a ± 1,5	44,7 ^a ± 1,2	44,6 ^a ± 1,5	42,8 ^b ± 1,7
PUFA	A	7,9 ^a ± 0,2	7,7 ^a ± 0,1	7,6 ^c ± 0,2	7,3 ^c ± 0,1	6,7 ^d ± 0,1
	B	8,7 ^b ± 0,3 ^b	8,4 ^b ± 0,3	7,6 ^c ± 0,2	7,6 ^c ± 0,3	7,6 ^c ± 0,1
	C	8,8 ^b ± 0,1 ^b	8,5 ^b ± 0,4	8,2 ^a ± 0,1	7,7 ^a ± 0,2	6,7 ^d ± 0,2
	D	9,1 ^b ± 0,2 ^b	7,9 ^a ± 0,1	7,9 ^a ± 0,1	7,7 ^a ± 0,1	7,7 ^a ± 0,1
Izomery <i>trans</i> <i>Trans</i> isomers	A	0,30 ^a ± 0,01	0,30 ^a ± 0,01	0,30 ^a ± 0,01	0,33 ^a ± 0,01	0,35 ^a ± 0,01
	B	0,31 ^a ± 0,02	0,31 ^a ± 0,01	0,32 ^a ± 0,01	0,33 ^a ± 0,02	0,35 ^a ± 0,01
	C	0,29 ^a ± 0,01	0,30 ^a ± 0,02	0,31 ^a ± 0,01	0,34 ^a ± 0,01	0,57 ^b ± 0,02
	D	0,28 ^a ± 0,01	0,31 ^a ± 0,01	0,31 ^a ± 0,02	0,31 ^a ± 0,01	0,35 ^a ± 0,01
PUFA <i>n</i> -3	A	0,50 ^a ± 0,02	0,49 ^a ± 0,02	0,49 ^a ± 0,02	0,49 ^a ± 0,01	0,46 ^a ± 0,01
	B	0,53 ^a ± 0,03	0,54 ^a ± 0,01	0,49 ^a ± 0,03	0,48 ^a ± 0,02	0,47 ^a ± 0,02
	C	0,54 ^a ± 0,01	0,53 ^a ± 0,01	0,52 ^a ± 0,01	0,51 ^a ± 0,01	0,42 ^c ± 0,01 ^c
	D	0,58 ^b ± 0,02	0,55 ^a ± 0,02	0,55 ^a ± 0,01	0,48 ^a ± 0,03	0,47 ^a ± 0,01
PUFA <i>n</i> -6	A	7,7 ^a ± 0,2	7,5 ^a ± 0,1	6,7 ^b ± 0,1	6,7 ^b ± 0,1	6,6 ^b ± 0,9
	B	8,0 ^a ± 0,1	7,0 ^a ± 0,1	7,0 ^a ± 0,2	6,8 ^b ± 0,2	6,8 ^b ± 0,8
	C	7,8 ^a ± 0,2	7,4 ^a ± 0,2	7,2 ^a ± 0,1	6,7 ^b ± 0,1	5,9 ^c ± 1,0 ^c
	D	7,4 ^a ± 0,1	6,8 ^b ± 0,2	6,7 ^b ± 0,2	6,4 ^b ± 0,2	5,8 ^c ± 1,1 ^c

c.d. tab. 3

PUFA <i>n-6/n-3</i>	A	14,4 ^a ± 0,9	14,1 ^a ± 0,7	14,1 ^a ± 0,7	13,5 ^b ± 0,6	12,9 ^c ± 1,8
	B	15,0 ^a ± 0,6	14,0 ^a ± 0,6	15,1 ^a ± 0,5	14,5 ^a ± 0,8	12,8 ^c ± 1,9
	C	14,4 ^a ± 0,7	14,4 ^a ± 0,8	13,4 ^b ± 0,8	13,4 ^b ± 0,4	16,3 ^d ± 1,6
	D	14,1 ^a ± 0,8	13,0 ^b ± 0,6	13,0 ^b ± 0,6	14,5 ^a ± 0,6	14,9 ^b ± 1,8

Objaśnienia: / Explanatory notes:

W tabeli przedstawiono wartości średnie ± odchylenia standardowe / Table shows mean values and standard deviations; n = 5

a, b, c, d – w obrębie jednej grupy kwasów tłuszczowych wartości średnie oznaczone różnymi literami różnią się statystycznie istotnie na poziomie $p \leq 0,05$ / within a group of fatty acids, mean values labeled by different superscripts differ significantly ($p \leq 0,05$).

Tabela 4. Zawartość wybranych kwasów tłuszczowych w tłuszczu przechowywanych kielbas doświadczalnych [mg/g tłuszczu].

Table 4. Content of selected fatty acids in fat of experimental sausages stored [mg/g fat].

Kwas tłuszczowy Fatty acid	Wariant kielbasy Sausage variant	Czas [doba] Time [day]				
		0	7	21	28	35
C16:0	A	32,4 ^a ± 1,3	32,6 ^a ± 1,4	32,8 ^a ± 1,5	33,1 ^a ± 1,2	33,4 ^a ± 0,9
	B	32,1 ^a ± 1,9	32,5 ^a ± 1,6	32,6 ^a ± 1,3	32,9 ^a ± 0,8	33,0 ^a ± 1,2
	C	32,3 ^a ± 1,6	32,9 ^a ± 1,2	33,2 ^a ± 1,8	33,9 ^a ± 1,1	34,2 ^a ± 1,3
	D	32,4 ^a ± 1,5	32,8 ^a ± 0,9	33,2 ^a ± 1,1	33,2 ^a ± 0,9	33,8 ^a ± 0,9
C18:1	A	38,3 ^a ± 0,8	37,7 ^a ± 1,1	37,5 ^a ± 0,9	37,5 ^a ± 1,0	36,8 ^b ± 1,1
	B	38,5 ^a ± 0,9	38,2 ^a ± 1,4	38,1 ^a ± 1,3	37,8 ^a ± 1,3	36,9 ^b ± 1,5
	C	39,8 ^a ± 1,2	38,1 ^a ± 1,8	36,7 ^b ± 0,8	36,4 ^b ± 0,7	35,3 ^c ± 1,0
	D	39,4 ^a ± 1,0	38,8 ^a ± 1,2	38,6 ^a ± 1,2	38,6 ^a ± 0,9	37,0 ^a ± 0,8
C18:2(<i>n-6</i>)	A	7,2 ^a ± 0,1	6,9 ^a ± 0,2	6,8 ^a ± 0,1	6,5 ^c ± 0,1	5,9 ^d ± 0,1
	B	7,9 ^b ± 0,2	7,6 ^b ± 0,1	7,3 ^a ± 0,2	6,9 ^a ± 0,1	6,0 ^d ± 0,1
	C	7,8 ^b ± 0,1	7,6 ^b ± 0,2	6,9 ^a ± 0,1	6,8 ^a ± 0,2	6,8 ^a ± 0,3
	D	8,2 ^b ± 0,3	7,1 ^a ± 0,3	7,1 ^a ± 0,2	6,9 ^a ± 0,1	6,9 ^a ± 0,2
C18:3(<i>n-3</i>)	A	0,48 ^a ± 0,01	0,46 ^a ± 0,01	0,44 ^a ± 0,01	0,43 ^b ± 0,01	0,40 ^b ± 0,01
	B	0,52 ^a ± 0,02	0,49 ^a ± 0,02	0,49 ^a ± 0,01	0,42 ^b ± 0,02	0,41 ^b ± 0,02
	C	0,48 ^a ± 0,01	0,47 ^a ± 0,01	0,46 ^a ± 0,02	0,45 ^a ± 0,01	0,36 ^d ± 0,01
	D	0,52 ^a ± 0,02	0,49 ^a ± 0,03	0,43 ^b ± 0,01	0,42 ^b ± 0,01	0,41 ^b ± 0,01

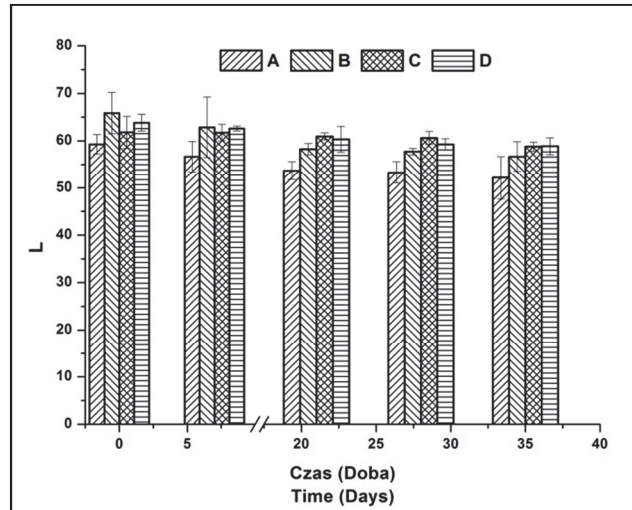
Objaśnienia jak w tabeli 3 / Explanatory notes as in table 3

tłuszczowych pozostawała na niezmiennym poziomie. W tłuszczu kielbas C zawartość izomerów *trans*, w końcowym okresie przechowywania, wzrosła niemal dwukrotnie. Najmniej wzrosła zawartość izomerów *trans* w tłuszczu kielbas B.

Podsumowując tę część badań można stwierdzić, że chitozan (o najwyższej masie cząsteczkowej – $135 \cdot 10^3$ Da) wraz z likopenem dodane do farszu kielbas w wariacie B wpływały na ochronę kwasów tłuszczowych przed zmianami oksydacyjnymi w podobnym stopniu jak azotan(III), obecny w składzie tradycyjnej mieszanki peklującej.

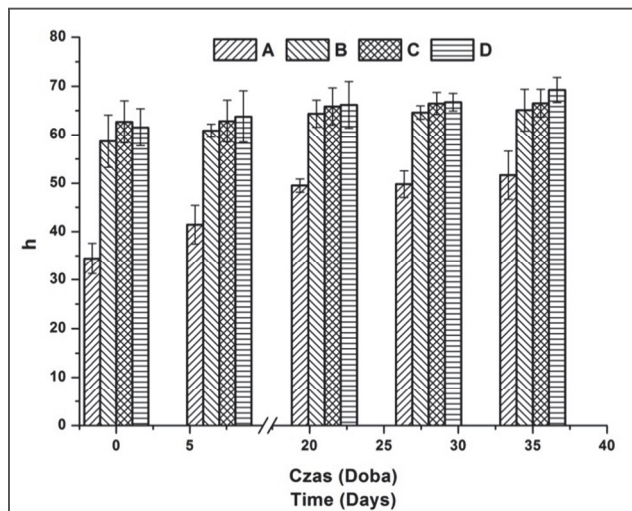
Podczas pięcioletniego przechowywania kielbas doświadczalnych najmniejsze zmiany jasności barwy (L^*) zaobserwowano w przypadku prób C (rys. 3). Najmniej stabilna pod tym względem okazała się kielbasa A. Przez cały okres przechowywania kielbasy wariantu C nie stwierdzono statystycznie istotnych ($p \leq 0,05$) różnic jasności barwy. W przypadku kielbas B i D zmiany te wystąpiły dopiero w ostatnim tygodniu przechowywania. Natomiast w kielbasie A zaobserwowano je już w trzecim tygodniu. Nie wykazano statystycznie istotnych ($p \leq 0,05$) różnic pomiędzy poszczególnymi odmianami chitozanu, zatem można stwierdzić, że średnia masa cząsteczkowa chitozanu nie miała wpływu na jasność badanych kielbas doświadczalnych. Fernández-López i wsp. [11] stwierdzili, że na jasność mięsa wpływa oksydacja lipidów, która w niniejszych badaniach była hamowana przez dodatek chitozanu do kielbas. Kąt tonu barwy (h) okazał się najbardziej stabilny w przypadku kielbasy B z dodatkiem chitozanu o średniej masie cząsteczkowej $135 \cdot 10^3$ Da (rys. 4). Największe zmiany parametru h stwierdzono w kielbasie C, do wyprodukowania której został użyty chitozan o masie molekularnej $68 \cdot 10^3$ Da. W wariantach kielbas B i D zmiany parametru h były nieistotne statystycznie ($p \leq 0,05$). Natomiast w wariantach A i C istotne ($p \leq 0,05$) zmiany wystąpiły w ostatnim tygodniu przechowywania.

Podsumowując ten fragment badań można stwierdzić, że masa cząsteczkowa chitozanu nie miała wpływu na zachowanie barwy badanych kielbas. Dodatek chitozanu stabilizował barwę kielbas barwionych likopenem. Do wytworzenia charakterystycznej barwy peklowanego mięsa konieczna jest obecność przynajmniej niewielkiego stężenia azotanów(III) w mieszance peklującej.



Rys. 3. Zmiany wartości jasności (L^*) barwy podczas chłodniczego przechowywania kiełbas doświadczalnych.

Fig. 3. Changes in colour lightness (L^*) during refrigerated storage of experimental sausages



Rys. 4. Zmiany wartości kąta tonu (h) podczas chłodniczego przechowywania kiełbas doświadczalnych.

Fig. 4. Changes in hue (h) value during refrigerated storage of experimental sausages.

Wnioski

1. Chitozan dodany wraz z likopenem do farszu mięsnego wpłynął na spowolnienie procesu oksydacji lipidów w czasie chłodniczego przechowywania wędzonych kielbasach parzonych.
2. Przeciwiutleniające oddziaływanie chitozanu zależało od jego średniej masy cząsteczkowej oraz od właściwości środowiska.
3. Najsilniejsze oddziaływanie przeciwiutleniające wykazywał chitozan o średniej masie cząsteczkowej $135 \cdot 10^3$ Da. Wraz z likopenem spełniał funkcję ochronną przed zmianami oksydacyjnymi w kielbasach w podobnym zakresie jak azotanowa mieszanka peklująca.
4. Wielonienasycone kwasy tłuszczowe (PUFA) były najlepiej zachowane w wariantach kielbas, w których zastosowano mieszaninę chitozanu o średniej masie cząsteczkowej $135 \cdot 10^3$ Da i likopenu.
5. W celu uzyskania pożądanej barwy kielbas z dodatkiem chitozanu i likopenu konieczny jest dodatek azotanu(III) do peklowanego mięsa.

Literatura

- [1] Abdou E.S., Nagy K.S.A., Elsabee M.Z.: Extraction and characterization of chitin and chitosan from local sources. *Biores. Technol.* 2008, **99**, 1359-1369.
- [2] Achremowicz B., Korus J.: Potrzeba regulacji zawartości izomerów trans kwasów tłuszczowych w żywności. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2007, **52**, **3**, 5-14.
- [3] Aguiar A.P.S., Contreras-Castillo C., Baggio S., Vicente E.: Meat quality of broilers from different rearing systems. *Ital. J. Food Sci.*, 2008, **20**, **2**, 213-223.
- [4] AOAC: Official Methods of Analysis. 15th Edition. Association of Official Analytical Chemists, Washington, DC, 1990.
- [5] AOCS: Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemists' Society. 4th Ed. Am. Oil Chem. SOC. Champaign, IL 1990.
- [6] Araújo W.A.G., Albino L.F.T., Sakomura N.K., Paulino P.V.R., Campos A.M.: Meat quality in "in door" and "out door" production systems of poultry and swine. *Open J. Animal Sci.*, 2011, **1**, **3**, 75-88.
- [7] Basso L.R., Moisés S., Brunori J.: Calidad de carne diferencial de cerdos producidos em sistemas al aire libre. Proc. of the IX encuentro de nutrición y producción en animales monogástricos, Montevideo, 2007, pp. **325**, 63-67.
- [8] Chemists' Society. 4th Ed. Am. Oil Chem. SOC. Champaign, IL 1989.
- [9] Cichosz G.: Oleje roślinne a zagrożenia nowotworami. *Przeł. Mlecz.*, 2008, **6**, 4-12.
- [10] Duh P.-D., Du P.-Ch., Yen G.-Ch.: Action of methanolic extract of mung bean hulls as inhibitors of lipid peroxidation and non-lipid oxidative damage. *Food and Chem. Toxicol.*, 1999, **37**, **11**, 1055-1061.
- [11] Fernández-López J., Sevilla L., Sayas-Barberá E., Navarro C., Marin F., Pérez-Alvarez J.A.: Evaluation of the antioxidant potential of hyssop (*Hyssopus officinalis* L.) and rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) extracts in cooked and pork meat. *J. Food Sci.*, 2003, **68**, **2**, 660-664.

- [12] Franci O., Bozzi R., Pugliese C., Acciaioli A., Campodoni G., Gandini G.: Performance of *Cinta Senese* pigs and their crosses with Large White. 1 Muscle and subcutaneous fat characteristics. *Meat Sci.*, 2005, **69**, **3**, 545-550.
- [13] Hoffman L.C., Styger E., Muller M., Brand T.S.: The growth and carcass and meat characteristics of pigs raised in a free-range or conventional housing system. *South African J. Animal Sci.*, 2003, **33**, **3**, 166-175.
- [14] Leoni, C.: Focus on lycopene. *Acta Horticulturae*, 2003, 613, 357-363.
- [15] Mau J.-L., Chang Ch.-N., Huang S.-J., Chen Ch.-Ch.: Antioxidant properties of methanolic extracts from *Grifola frondosa*, *Morchella esculenta* and *Termitomyces albuminosus* mycelia. *Food Chem.*, 2004, **87**, **1**, 111-118.
- [16] Muzzarelli R.A.A.: Chitosan – based dietary foods. *Carbohydr. Polym.*, 1996, **29**, **4**, 304-316.
- [17] Pisula A., Pospiech E.: Mięso – podstawy nauki i technologii. Wyd. SGGW. Warszawa, 2011, ss. 322-340.
- [18] PN-EN ISO 6885:2008. Oleje i tłuszcze roślinne oraz zwierzęce. Oznaczanie liczby anizydynowej.
- [19] Pugliese C., Bozzi R., Campodoni G., Acciaioli A., Franci O., Gandini G.: Performance of *Cinta Senese* pigs reared outdoors and indoors.: 1. Meat and subcutaneous fat characteristics. *Meat Sci.*, 2005, **69**, **3**, 459-464.
- [20] Shahidi F., Arachchi J.K.V., Jeon Y.-J.: Food application of chitin and chitosan. *Trends Food Sci. Technol.*, 1999, **10**, **2**, 37-51.
- [21] Tan S.Ch., Tan T.K., Wong S.M., Khor E.: The chitosan yield of *Zygomycetes* at their optimum harvesting time. *Carbohydr. Polym.*, 1996, **30**, **4**, 239-242.
- [22] Tomida H., Fujii T., Furutani N., Michihara A., Yasufuku T., Akasaki K., Maruyama T., Otagiri M., Gebicki J.M., Anraku M.: Antioxidant properties of some different molecular weight chitosans. *Carbohydr. Res.*, 2009, **344**, **13**, 1690-1696.
- [23] Xing R., Liu S., Guo Z., Yu H., Wang P., Li C., Li Z., Li P.: Relevance of molecular weight of chitosan and its derivatives and their antioxidant activities *in vitro*. *Bioorg. Med. Chem.*, 2005, **13**, **5**, 1573-1577.
- [24] Yen M.-T., Tseng Y.-H., Li R.-Ch., Mau J.-L.: Antioxidant properties of fungal chitosan from shii-take stipes. *LWT - Food Sci. Technol.*, 2007, **40**, **2**, 255-261.
- [25] Yen M.-T., Yang J.-H., Mau J.-L.: Antioxidant properties of chitosan from crab shells. *Carbohydr. Polym.*, 2008, **74**, **4**, 840-844.

ANTIOXIDANT PROPERTIES OF CHITOSAN IN SAUSAGES WITHOUT NITRATE (III) ADDED

S u m m a r y

Theoretical assumptions suggest that chitosan might be, owing to its good antioxidant properties, a component of a set of additives, which are able to eliminate a nitrate(III) compound from the production of sausages. The antioxidant activity of chitosan depends on the method of how it is obtained, on its molecular structure, and on the properties of biological material, to which it was added.

The objective of the research study was to determine the antioxidant effectiveness of chitosan with different molecular weight values that was added, together with lycopene, to medium-comminuted pork sausages stored under the refrigeration conditions for 35 days.

The antioxidant properties of chitosan were determined based on: the AV values, MDA concentration and content of fatty acids, and colour parameters. It was shown that the chitosan of a molecular weight of $135 \cdot 10^3$ Da, was characterized by the strongest antioxidant activity. Together with the lycopene, it acted as

an agent protecting against oxidative changes, and its protective range was similar to that of the traditional curing mix. On the other hand, the chitosan of a molecular weight of $68 \cdot 10^3$ Da had the weakest antioxidant properties. The decrease in the content of PUFAs in the sausages with the added chitosan of a molecular weight of $68 \cdot 10^3$ Da was about twice as high (2.1 mg/g fat) compared to the sausages with the added chitosan of a molecular weight of $135 \cdot 10^3$ Da (1.1 mg/g of fat). In the sausages analyzed, the ratio between the *n-6* series and *n-3* series fatty acids in the sausages tested was three times higher than the desired ratio (12.9 - 16.3), and it was typical for the pork meat.

Key words: chitosan, medium-comminuted sausages, fatty acids, curing ☒