



**POLSKIE TOWARZYSTWO
TECHNOLOGÓW ŻYWNOŚCI**

ŻYWNOŚĆ

NAUKA • TECHNOLOGIA • JAKOŚĆ

Nr 2 (35) Supl.

Kraków 2003

Rok 10

ŻYWNOSĆ

Organ naukowy PTTŻ – kwartalnik

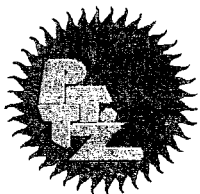
Nr 2 (35) Supl.

Kraków 2003

Rok 10

Zamieszczone artykuły są recenzowane

Czasopismo jest referowane przez: AGRO-LIBREX, Chemical Abstracts Service i IFIS



**POLSKIE TOWARZYSTWO
TECHNOLOGÓW ŻYWNOŚCI**

ŻYWNOŚĆ

NAUKA • TECHNOLOGIA • JAKOŚĆ

REDAKCJA:

Redaktor naczelny: prof. dr hab. Tadeusz Sikora; tel./fax 012/ 293-50-54

Sekretarz redakcji: dr Ewa Ślawska; tel. 012/ 662-51-61; e-mail:

ewaslawska@wp.pl

Redaktorzy: prof. dr hab. Bohdan Achremowicz, prof. dr hab. Włodzimierz Grajek,

prof. dr hab. Danuta Kolożyn-Krajewska, prof. dr hab. Bogusław Król, prof. dr hab. Krzysztof

Krygier, prof. dr hab. Stefan Ziajka, prof. dr hab. Mieczysław Pałasiński, dr Teresa Woźniakiewicz

Stali współpracownicy: prof. dr hab. Teresa Fortuna (Kraków), prof. dr hab. Jacek Kijowski (Poznań), dr Grażyna Morkis (Warszawa), dr inż. Stanisław Popek (Kraków), prof. dr hab. Maria Soral-Śmietana (Olsztyn)

RADA PROGRAMOWA:

prof. dr Antoni Rutkowski (*przewodniczący*), dr hab. Kazimierz Dąbrowski (*sekretarz*),

prof. dr hab. Zbigniew Duda, prof. dr hab. Nina Baryłko-Pikielna, prof. dr hab. Janusz Czapski,

prof. dr hab. Mirosław Fik, prof. dr hab. Józef Fornal, prof. dr hab. Roman A. Grzybowski,

prof. dr hab. Jan Kiszka, prof. dr hab. Henryk Kostyra, prof. dr hab. Andrzej Lenart,

prof. dr hab. Helena Oberman, prof. dr hab. Zdzisław E. Sikorski, prof. dr hab. Stanisław Tyszkiewicz

RADA KONSULTACYJNA:

prof. dr Henryk Daun (USA), prof. dr Jerzy Jankun (USA), dr Józef Korolczuk (Francja),

prof. dr Marian Naczk (Kanada), prof. dr Jan Pokorný (Czechy), prof. dr Roman Przybylski

(Kanada), dr Andrzej Sośnicki (USA), dr Leszek Stepaniak (Norwegia), dr Alina Surmacka-

Szcześniak (USA), dr John Wojciak (Kanada).

WYDAWCA:

POLSKIE TOWARZYSTWO TECHNOLOGÓW ŻYWNOSCI

WYDAWNICTWO NAUKOWE PTTŻ

www.ptz.org

W latach 1994-1999 wydawcą kwartalnika był Oddział Małopolski PTTŻ

© Copyright by Polskie Towarzystwo Technologów Żywności, Kraków 2003

Printed in Poland

Wydawanie publikacji dofinansowane przez Komitet Badań Naukowych

ISSN 1425-6959

ADRES REDAKCJI:

31-425 KRAKÓW, AL. 29 LISTOPADA 46

SKŁAD I DRUK:

Wydawnictwo Naukowe „Akapit”, Kraków

tel./fax (012) 280-71-51

e-mail: msroda@uci.agh.edu.pl

OD REDAKCJI

Szanowni Czytelnicy,

przekazujemy Państwu suplement nr 2 (35) kwartalnika „Żywność”, w którym publikujemy artykuły będące pokłosiem VIII Ogólnopolskiej Sesji Młodej Kadry Naukowej PTTŻ nt. „Bezpieczna żywność”, zorganizowanej przez Sekcję Młodej Kadry Naukowej i Zarząd Główny PTTŻ, Oddział Olsztyński PTTŻ oraz Oddział Nauki o Żywności IRZiBŻ PAN w Olsztynie.

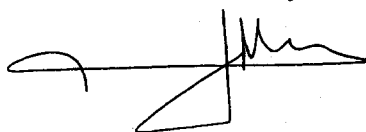
Mamy nadzieję, że artykuły zamieszczone w tym numerze okażą się interesujące dla naszych Czytelników.

Młodych pracowników nauki zachęcamy do obejrzenia strony internetowej www.pan.pl/fundacja_psv, na której Fundacja Członków Wydziału Nauk Rolniczych, Leśnych i Weterynaryjnych PAN „Pro Scientia et Vita” przedstawia zasady wspomagania działalności naukowej tej grupy zawodowej, w postaci przyznawania nagród za osiągnięcia badawcze oraz dofinansowania udziału w międzynarodowych kongresach.

Informujemy także, że Polskie Towarzystwo Technologów Żywności uruchomiło nową stronę internetową www.pttz.org, na której nasi Czytelnicy znajdą informacje o bieżącej działalności Towarzystwa oraz informacje o działalności wydawniczej naszego Wydawnictwa.

Kraków, wrzesień 2003 r.

Redaktor Naczelny



Tadeusz Sikora

**SEKCJA MŁODEJ KADRY NAUKOWEJ
POLSKIEGO TOWARZYSTWA TECHNOLOGÓW ŻYWNOŚCI
ORAZ
KATEDRA ŻYWIENIA CZŁOWIEKA WTŻ W KRAKOWIE
WYDZIAŁ TECHNOLOGII ŻYWNOŚCI
30 LAT ODDZIAŁU I WYDZIAŁU TECHNOLOGII ŻYWNOŚCI
ODDZIAŁ MAŁOPOLSKI PTTŻ
ZARZĄD GŁÓWNY PTTŻ**

zaprasza na

IX Sesje Naukową SMKN PTTŻ

Polska Żywność – stan obecny i perspektywy

Kraków, 25-26 maja 2004

Informacji udziela mgr inż. Magdalena Franczyk
Katedra Żywienia Człowieka
Wydział Technologii Żywności
AR w Krakowie
al. 29 Listopada 46, 31-425 Kraków
e-mail: magda.franczyk@xl.wp.pl
<http://snack.p.lodz.pl/smpttz>

SPIS TREŚCI

MARIA WRONKOWSKA Sprawozdanie z VII Ogólnopolskiej Sesji Młodej Kadry Naukowej PTTŻ.....	7
ANETA ARCISZEWSKA, ANETA CEGIELKA Wpływ wielkości dodatku i czasu działania transglutaminazy oraz stopnia rozdrobienia mięsa na właściwości farszów drobiowych z obniżoną zawartością soli kuchennej.....	9
ANNA FABISIAK, DOROTA WITROWA-RAJCHERT, JOANNA GŁUSZKO Wpływ temperatury na wybrane właściwości jabłek suszonych konwekcyjnie i sublimacyjnie.....	19
ILONA GAŁĄZKA, ROBERT KLEWICKI, KATARZYNA ŚLIŻEWSKA Zdolność wybranych szczepów <i>Lactobacillus sp.</i> do fermentowania oligosacharydów i oligopoliooli o zróżnicowanym stopniu polimeryzacji	28
ANETA JAROSŁAWSKA, JAN OSZMIAŃSKI Wpływ polifenoli tarczycy bajkalskiej i głogu dwuszyjkowego na procesy utleniania wybranych składników ciasta kruchego w trakcie jego wypieku	38
KATARZYNA JUREK, AGNIESZKA PETRÓW Wpływ substytucji słodu przetworami kukurydzianymi na zawartość azotu α -aminowego w brzezczkach laboratoryjnych.....	49
STANISŁAW KALISZ, MARTA MITEK Zawartość składników o właściwościach przeciwutleniających w sokach i napojach z owoców kolorowych.....	61
MAGDALENA KOPERA, MARTA MITEK Charakterystyka chemiczna owoców wybranych odmian gruszy azjatyckiej (<i>Pyrus pyrifolia</i>).....	68
JAROSŁAW KOWALIK, ANNA TARCZYŃSKA, STEFAN ZIAJKA Szacowanie ryzyka mikrobiologicznego – zastosowanie w produkcji i obrocie żywnością.....	76
JOLANTA KOWALSKA Wpływ powlekania na właściwości fizyczne aglomerowanego sproszkowanego napoju kakaowego	86
URSZULA KRUPA, MARIA SORAL-ŚMIETANA Nasiona fasoli – źródłem odżywczych i nieodżywczych makroskładników	98

EWA MAJEWSKA	
Walidacja miareczkowej metody oznaczania aspartamu z zastosowaniem metanolanu sodu	112
MAGDALENA MICHALCZYK, ANNA LESZCZYŃSKA-FIK	
<i>Listeria monocytogenes</i> w przetworach typu „gravad” z pstrąga tęczowego (<i>Oncorhynchus mykiss</i>)	122
ANNA MIKULAJOVÁ, MÁRIA TAKÁCSOVÁ, KITTI NÉMETH, NATÁLIA RAŠOVÁ, SILVIA VOJTEKOVÁ	
Właściwości przeciwutleniające wyciągu z otrąb pszennych w stosunku do oleju rzepakowego	128
KITTI NÉMETH, MÁRIA TAKÁCSOVÁ, MARIUSZ K. PISKUŁA	
Metabolizm flawonoidów u ludzi	134
AGNIESZKA PAULO, MAREK CIERACH	
Stabilność przechowalnicza kiełbas parzonych z dodatkiem fosforanu dwuskrobiowego (skronet).....	139
BARTOSZ SOŁOWIEJ, JACEK PIELECKI, DOMINIK SZWAJGIER	
Predykcja wyników jednoczesnej produkcji inulinazy i inwertazy przez szczepy <i>Aspergillus niger</i> i <i>Kluyveromyces marxianus</i> przy zastosowaniu techniki sieci neuronowych.....	147
IWONA ŚCIBISZ, MARTA MITEK, JOANNA MALEWSKA	
Aktywność przeciwutleniająca owoców borówki wysokiej (<i>Vaccinium corymbosum</i> L.).....	159
ANNA TARCZYŃSKA, STEFAN ZIAJKA, JAROSŁAW KOWALIK	
Metody statystyczne w systemie HACCP w przemyśle mleczarskim.....	167
INGRID WACHOWICZ, DANUTA KOŁOŻYŃSKA-KRAJEWSKA	
Wpływ solenia i solankowania na jakość mikrobiologiczną mięsa kurcząt	179
JOANNA WILCZEWSKA, JAN KŁOBUKOWSKI, JERZY SZPENDOWSKI	
Wpływ sposobu koagulacji na biodostępność wapnia i fosforu z permeatów otrzymanych przy produkcji serów twarogowych metodą ultrafiltracji	190
RAFAŁ WOŁOSIAK	
Porównanie właściwości przeciwutleniających preparatów karotenoidów uzyskanych z owoców pomidora i papryki.....	199
ANNA ŻBIKOWSKA, KRZYSZTOF KRYGIER	
Wpływ zawartości izomerów trans w tłuszczach na jakość ciast wysokotłuszczowych	207

SPRAWOZDANIE Z VIII OGÓLNOPOLSKIEJ SESJI MŁODEJ KADRY NAUKOWEJ PTTŻ

VIII Ogólnopolska Sesja Młodej Kadry Naukowej Polskiego Towarzystwa Technologów Żywności odbyła się w dniach 28–29 maja 2003 r. w Guzowym Piecu koło Olsztyna. Organizatorami Sesji byli: Zarząd Główny PTTŻ, Olsztyński Oddział PTTŻ i Oddział Nauki o Żywności IRZiBŻ PAN w Olsztynie. Wzięło w niej udział 75 osób, w tym: ośmiu profesorów, młodzi pracownicy naukowcy oraz uczestnicy studiów doktorskich. Reprezentowane były następujące ośrodki naukowe: AM Gdynia, AR Kraków, AR Lublin, AR Poznań, AR Wrocław, IRZiBŻ PAN Olsztyn, Politechnika Łódzka, SGGW Warszawa. Program spotkania obejmował trzy sesje referatowe, na których przedstawiono 20 ustnych doniesień oraz sesję plakatową, w której zaprezentowano 45 plakatów. Nowością spotkania było wprowadzenie po raz pierwszy angielskojęzycznej sesji referatowej, w której uczestniczyli młodzi pracownicy naukowcy z Polski oraz stypendyści CENEXFOOD IRZiBŻ PAN w Olsztynie. Zgodnie z tradycją, Sesja rozpoczęła się wykładem plenarnym, który wygłosił prof. dr hab. P. Pisulewski oraz dr. inż. R. Kostogrys z Akademii Rolniczej w Krakowie.

Tematyką wiodącą tegorocznej Sesji była „Bezpieczna żywność”, chociaż problematyka prezentowanych prac obejmowała również inne zagadnienia.

Poziom prezentowanych prac był wysoki, co postawiło trudne zadanie zespołowi oceniającemu w składzie: prof. N. Baryłko-Pikielna (przewodnicząca Zespołu Oceniającego), prof. A. Golachowski, prof. J. Kłobukowski, prof. H. Kostyra, prof. M. Nogała-Kałużka, prof. P. Pisulewski, prof. A. Rutkowski, prof. T. Sikora, dr M. Wronkowska (przewodnicząca Komitetu Organizacyjnego Sesji). Zespół dokonał oceny merytorycznej i atrakcyjności prezentacji ustnych i plakatowych i na tej podstawie wyróżnieni zostali:

- Edyta Sienkiewicz-Szłapka (Uniwersytet Warmińsko-Mazurski) za prezentację pracy „Właściwości opioidowe peptydów wyizolowanych z mleka UHT”

- Michał Piegza (Akademia Rolnicza we Wrocławiu) za prezentację pracy „Aktywność hydrolityczna drożdży *Geotrichum candidum* w obecności biomasy grzybów rodzaju *Fusarium*”
- Ewelina Węsierska (Akademia Rolnicza we Wrocławiu) za plakat „Oddziaływanie mikrofalami – niekonwencjonalna metoda dezaktywacji komórek mikroorganizmów w utrwalaniu produktów żywnościowych”
- Artur Olesienkiewicz (Akademia Rolnicza w Poznaniu) za plakat „Enzymatyczna synteza glukooligosacharydów z zastosowaniem glukoamylazy z preparatu GLU-KOPOL P-15”

Wszystkim wyróżnionym autorom prac zostały przyznane nagrody pieniężne ufundowane przez: Zarząd Główny PTTŻ, Oddział Olsztyński PTTŻ oraz 2 nagrody ufundował Oddział Nauki o Żywności IRZiBŻ PAN w Olsztynie.

W trakcie trwania Sesji odbyły się wybory do Zarządu Sekcji Młodej Kadry Naukowej Polskiego Towarzystwa Technologów Żywności na kadencję 2004/2006. Ukonstytuował się nowy Zarząd w składzie: przewodniczący – Maciej Wojtczak (Łódź), zastępca przewodniczącego – Aneta Jarosławska (Wrocław), zastępca przewodniczącego – Stanisław Kalisz (Warszawa) oraz członkowie: Magdalena Franczyk (Kraków), Ilona Gałązka (Łódź), Krzysztof Kołodziejczyk (Łódź), Katarzyna Marciniak–Łukasik (Warszawa), Artur Olesienkiewicz (Poznań), Małgorzata Wronkowska (Olsztyn).

Wybory nowego Zarządu poprzedziła plenarna dyskusja na temat przyszłości Sekcji Młodej Kadry Naukowej PTTŻ oraz jej roli w integrowaniu środowiska młodych naukowców, co wiąże się również w istotny sposób z organizowaniem kolejnych, ogólnopolskich sesji z tego cyklu.

Naukowe spotkanie było uatrakcyjnione miłymi dla ducha i ciała zabawami wśród mazurskiego lasu rozświetlonego płomieniami ogniska.

Kolejna, IX Sesja odbędzie się w przyszłym roku w Krakowie.

Maria Wronkowska

ANETA ARCISZEWSKA, ANETA CEGIELKA

WPLYW WIELKOŚCI DODATKU I CZASU DZIAŁANIA TRANSGLUTAMINAZY ORAZ STOPNIA ROZDROBNIENIA MIĘSA NA WŁAŚCIWOŚCI FARSZÓW DROBIOWYCH Z OBNIŻONĄ ZAWARTOŚCIĄ SOLI KUCHENNEJ

Streszczenie

Celem pracy było określenie wpływu wielkości dodatku transglutaminazy (0,2; 0,3%), czasu jej działania oraz stopnia rozdrobnienia mięsa (grubo, średnio i drobno rozdrobnione) na wybrane właściwości modelowych farszów z mięśni udowych kurcząt z obniżoną zawartością soli kuchennej (1,5%).

W farszach, przetrzymywanych w warunkach chłodniczych przez 30 min, 4 h, 24 h (czas działania enzymu), dokonywano pomiaru ilości wycieku po obróbce termicznej, tekstury oraz barwy metodą odbiciową.

Stwierdzono ograniczenie ubytków cieplnych wraz ze wzrostem stopnia rozdrobnienia mięsa w farszach. Zwiększenie wielkości dodatku preparatu transglutaminazy oraz wydłużenie czasu działania enzymu powodowało wzrost ilości wycieku po obróbce termicznej przy równoczesnej poprawie tekstury farszów z mięśni udowych. Twardość farszów rosła wraz ze wzrostem stopnia rozdrobnienia, niezależnie od czasu działania enzymu. Zwiększenie dodatku preparatu enzymu miało niekorzystny wpływ na barwę farszów modelowych.

Słowa kluczowe: transglutaminaza, mięśnie udowe kurcząt, wyciek termiczny, tekstura, parametry barwy, obniżona zawartość soli.

Wstęp

Mięso drobiowe polecane jest przez żywieniowców ze względu na niższą wartość energetyczną oraz inny skład chemiczny w porównaniu z mięsem dużych zwierząt rzeźnych. Jednocześnie stanowi ono dobry surowiec do produkcji dietetycznych przetworów mięsnych [5, 6, 13, 15].

Od pewnego czasu prowadzone są badania nad stosowaniem w przetwórstwie mięsa transglutaminazy. Obecnie, z powodu wysokich kosztów wytwarzania enzym

ten nie jest stosowany na dużą skalę, ale w przypadku przetwarzania mięsa z wadą PSE (wieprzowego oraz drobiowego) może przynieść pozytywne efekty związane z poprawą tekstury produktów [2, 6, 11, 12].

Transglutaminaza jest enzymem o dużej zdolności poprawiania fizycznych właściwości żywności zawierającej białko, zwłaszcza jej tekstury. Nowa metoda oparta na wykorzystaniu działania tego enzymu zakłada chemiczny sposób indukowania żelu w miejsce procesu cieplnego. Związanie produktu mięsnego możliwe jest wówczas bez dodatku soli kuchennej, co ma duże znaczenie dietetyczne, czy też fosforanów lub przy zmniejszonej wielkości dodatku tych substancji [7, 8, 9, 11]. Zastosowanie preparatu zawierającego transglutaminazę pozwala wiązać poszczególne elementy mięsa w jednolity produkt [14].

Celem niniejszej pracy było określenie wpływu wielkości dodatku transglutaminazy (0,2 i 0,3%) i czasu działania tego enzymu na jakość modelowych farszów z mięsa kurcząt o różnym stopniu rozdrobnienia i z obniżoną zawartością soli kuchennej (1,5%). Do wytwarzania farszów użyto mięśni udowych kurcząt.

Material i metody badań

Surowiec do badań stanowiło mięso z ud kurcząt, bez skóry. Jest to surowiec mający szersze zastosowanie w produkcji przetworów z rozdrobnionego mięsa drobiowego niż mięśnie piersiowe, które przetwarzane są zwykle w całości. Tuszki wychłodzone przez 48 h zakupiono w jednym z hipermarketów. Sporządzono sześć wariantów farszów modelowych, różniących się wielkością dodatku preparatu transglutaminazy (0,2; 0,3%) oraz stopniem rozdrobnienia mięsa (tab. 1). Jako źródło transglutaminazy (TG) stosowano preparat enzymatyczny ACTIVA WM japońskiej firmy Ajinomoto, zawierający 1% transglutaminazy i 99% maltodekstryny. Zastosowaną wielkość dodatku ustalono na podstawie zaleceń producenta, danych literaturowych oraz badań własnych [2, 9, 10].

Mięso z kurcząt (w ilości ok. 3 kg) krojono na kawałki (ok. 50 g), dokładnie mieszano i dzielono na trzy porcje. Rozdrabnianie surowca mięsnego prowadzono w wilku laboratoryjnym, stosując siatkę szarpak (farsz grubo rozdrobniony), siatkę o średnicy otworów 8 mm (farsz średnio rozdrobniony) lub siatkę o średnicy otworów 3 mm (farsz drobno rozdrobniony). Dodatek solanki wynosił 20% w stosunku do masy surowca mięsnego. Solankę wprowadzano do mięsa w procesie mieszania (mieszarka Kenwood Major), a wraz z nią dodawano (w stosunku do masy surowca): 0,015% NaNO_2 (substancja peklująca), 1,5% soli kuchennej, 0,2 lub 0,3% (w zależności od wariantu) preparatu transglutaminazy ACTIVA WM.

Proces mieszania prowadzono do momentu całkowitego wchłonięcia solanki, tj. ok. 15 min.

Tabela 1

Warianty farszów doświadczalnych.

Experimental batters variants.

Wariant / Variant	Rodzaj farszu / Batter type	Wielkość dodatku preparatu transglutaminazy / Transglutaminase [%] **
I	Grubo rozdrobniony / Coarsely ground	0,2%
II	Grubo rozdrobniony / Coarsely ground	0,3%
III	Średnio rozdrobniony / Medium meat particle size	0,2%
IV	Średnio rozdrobniony / Medium meat particle size	0,3%
V	Drobno rozdrobniony / Finely ground	0,2%
VI	Drobno rozdrobniony / Finely ground	0,3%

*w każdym wariancie farszu ilość azotanu(III) (0,015%) i soli kuchennej (1,5%) była jednakowa. / each time the amount of NaNO_2 (0,015%) and NaCl (1,5%) was the same.

Gotowe farsze w ilości 50 g naważano do zlewek (o średnicy 50 mm i wysokości 100 mm), które przykrywano szczelnie folią polietylową i umieszczano w chłodni (4–6°C). Farsze przetrzymywano w warunkach chłodniczych przez 30 min, 4 h lub 24 h (czas działania enzymu). W surowych farszach dokonywano pomiaru pH, przy użyciu pehametru ELMETRON, typ CP-315, stosując zespoloną elektrodę szklano-kalomelową. Proces obróbki termicznej prowadzono w łaźni wodnej o temp. 68–70°C przez 60 min. Bezpośrednio po ogrzaniu farszów oznaczano ilość wycieku (procentowy ubytek masy farszu). Następnie po 24 h przetrzymywania próbek w warunkach chłodniczych (4–6°C) w próbkach farszów (walce o wysokości 30 mm) dokonywano pomiaru tekstury metodą instrumentalną przy użyciu aparatu wytrzymałościowego Zwicky, typ 1120 (firmy Zwick). Wartość maksymalnej siły penetracji zdefiniowano jako maksymalną siłę uzyskaną przy penetracji trzpienia cylindrycznego płaskościętego o średnicy 13 mm, na głębokość 10 mm w próbce farszu, od momentu osiągnięcia naprężenia wstępnego 2 N. Ponadto przeprowadzano pomiar barwy farszów metodą odbiciową (aparat Minolta CR-200), określając trzy składowe barwy: a*, b*, L*.Wartości a*, b* są współrzędnymi trójchromatyczności, przy czym wartość a* odpowiada barwie czerwonej, b* barwie żółtej. Parametr barwy L* określa jasność, a zakres przyjmowanych przez niego wartości wynosi od 0 (idealna czerń) do 100 (idealna biel).

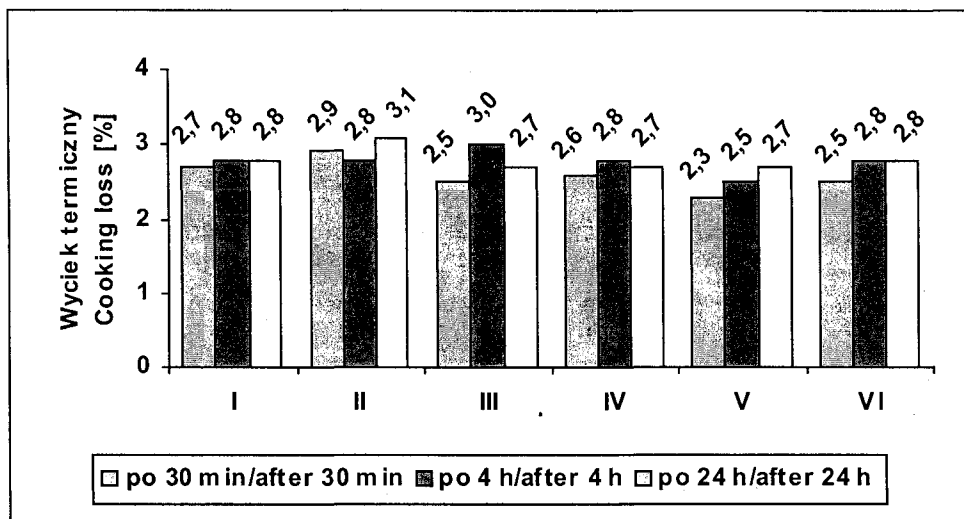
Doświadczenie wykonano w czterech powtórzeniach.

W analizie statystycznej wyników zastosowano trójczynnikiową analizę wariancji oraz test Tukey'a, używając programu Statgraphics Plus 4.1.

Wyniki i dyskusja

Średnie pH poszczególnych wariantów farszów modelowych kształtowało się na poziomie 6,5–6,6.

Średnia ilość wycieku termicznego w farszach z mięsa kurcząt zawierała się w granicach od 2,3 do 3,1% (rys. 1). Najlepszą zdolnością utrzymywania wody charakteryzował się farsz drobno rozdrobniony z 0,2% dodatkiem transglutaminazy po 30 min działania enzymu (wariant V). Największą ilość wycieku stwierdzono natomiast w farszu z mięsa grubo rozdrobnionego z 0,3% udziałem preparatu transglutaminazy, po 24 h działania enzymu (wariant II).



Rys. 1. Ilość wycieku termicznego w farszach z mięsa kurcząt o różnym stopniu rozdrobnienia w zależności od wielkości dodatku i czasu działania transglutaminazy. Opis wariantów jak w tab. 1.

Fig. 1. Cooking loss of chicken meat batters at different particle size, transglutaminase level and enzyme reacting time. Description of variants in Tab. 1.

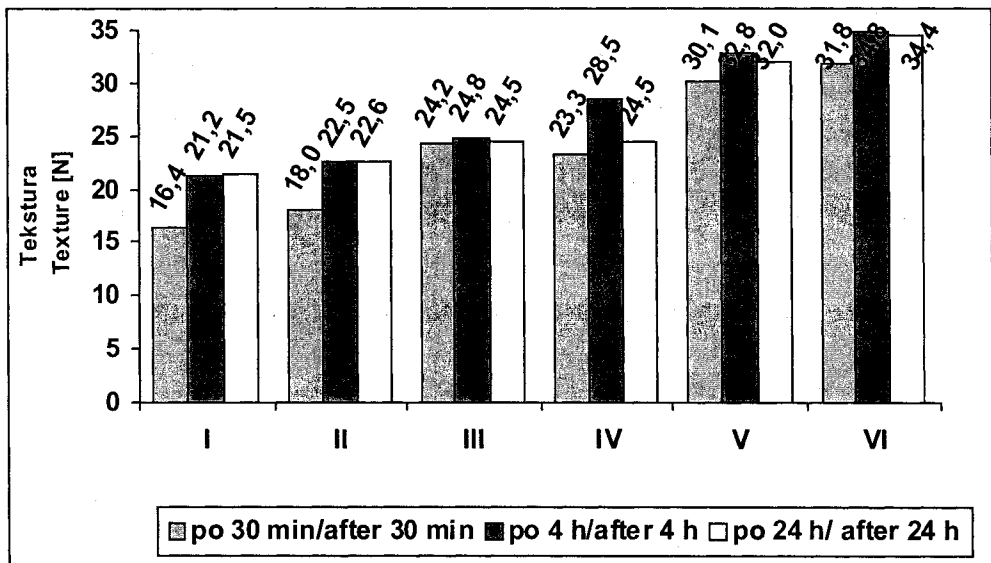
Wzrost stopnia rozdrobnienia mięsa kurcząt powodował ograniczenie ubytków cieplnych w farszach modelowych. Było to wynikiem uwolnienia większej ilości białek miofibrylarnych w trakcie procesu rozdrabniania mięsa. Białka te charakteryzują się bardzo dobrymi właściwościami wiązania wody własnej oraz dodanej w trakcie procesu technologicznego [5].

Zwiększenie wielkości dodatku preparatu ACTIVA WM (z 0,2 do 0,3%), zawierającego aktywną transglutaminazę, powodowało prawdopodobnie, w wyniku „uściślenia” sieci białkowej, dodatkowe usuwanie wody z farszu, co objawiło się wzrostem ilości wycieku po obróbce termicznej.

Najmniejszą ilość wycieku stwierdzono we wszystkich trzech rodzajach farszu po 30 min działania enzymu (wartości od 2,3 do 2,9%). Rezultatem wydłużenia czasu działania enzymu do 4 i 24 h był zwykle wzrost ubytków termicznych o 0,1–0,5% w poszczególnych wariantach.

Po przeprowadzeniu analizy statystycznej uzyskanych wyników stwierdzono istotny ($\alpha = 0,05$) wpływ wszystkich trzech badanych czynników, tj. stopnia rozdrobnienia, wielkości dodatku transglutaminazy oraz czasu działania enzymu, na ilość wycieku termicznego w farszach drobiowych.

Wartość maksymalnej siły penetracji (F_{max}) wahała się w szerokim zakresie (od 16,4 do 34,8 N), co wskazuje na różnice w teksturze pomiędzy trzema rodzajami badanych farszów (rys. 2). Najniższą wartością tego parametru tekstury charakteryzował się farsz grubo rozdrobniony z 0,2% dodatkiem preparatu transglutaminazy, po 30 min działania enzymu (wariant I). Najtwardszy był natomiast farsz drobno rozdrobniony z 0,3% dodatkiem preparatu enzymatycznego po 4 h jego działania (wariant VI).



Rys. 2. Tekstura farszów z mięsa kurcząt o różnym stopniu rozdrobnienia w zależności od wielkości dodatku i czasu działania transglutaminazy. Opis wariantów jak w tab. 1.

Fig. 2. Texture of chicken meat batters at different particle size, transglutaminase level and enzyme reacting time. Description of variants in Tab. 1.

Wartość maksymalnej siły penetracji rosła wraz ze wzrostem stopnia rozdrobnienia mięsa. Największe różnice twardości wystąpiły między farszami grubo rozdrobnionymi, w przypadku których wartość maksymalnej siły penetracji zawierała się w

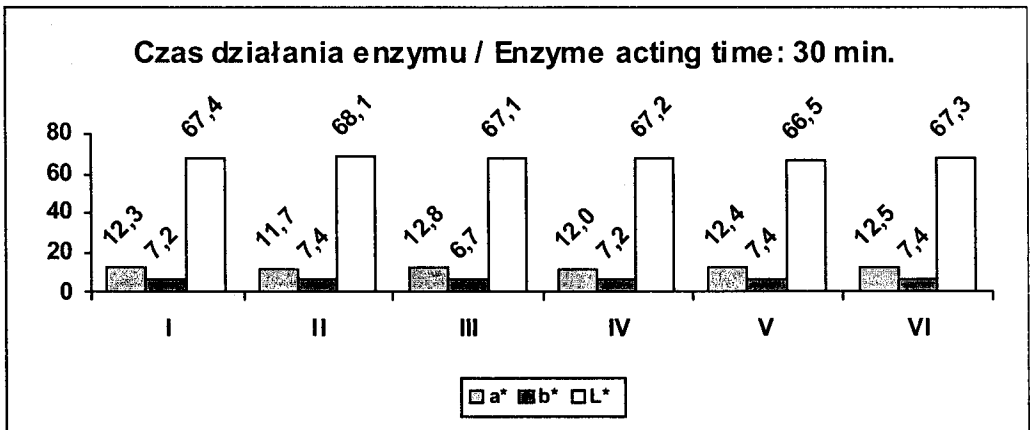
przedziale od 16,4 do 22,6 N, a farszami drobno rozdrobnionymi – wartości od 30,1 do 34,8 N.

Również zwiększenie wielkości dodatku preparatu enzymatycznego z 0,2 do 0,3% powodowało wzmocnienie tekstury farszu – niezależnie od stopnia jego rozdrobnienia. Poprawę tekstury stwierdzono zwłaszcza w przypadku farszów o największym stopniu rozdrobnienia, co objawiło się wzrostem wartości maksymalnej siły penetracji o ok. 1–3 N.

Wynikiem wydłużenia czasu działania enzymu z 30 min do 4 h był wzrost twardości farszów wytworzonych z mięsa grubo, średnio i drobno rozdrobnionego. W farszach przetrzymywanych w warunkach chłodniczych przez 24 h nie stwierdzono dalszego wzrostu wartości maksymalnej siły penetracji.

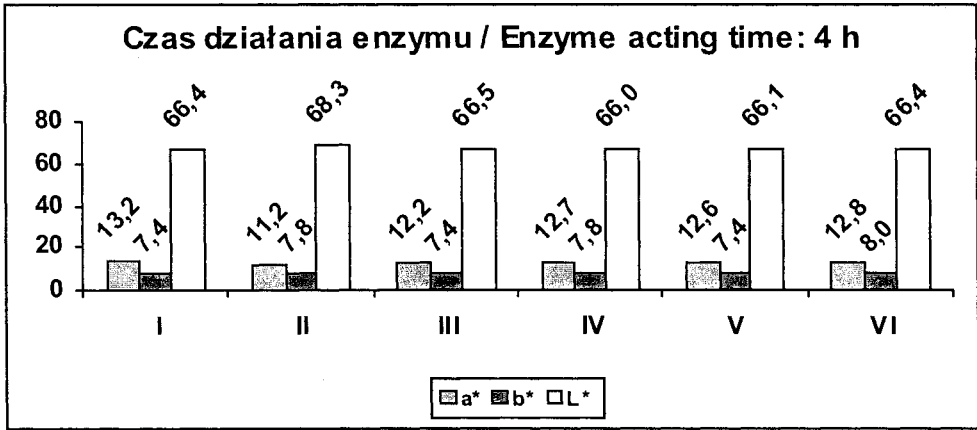
Na podstawie analizy statystycznej uzyskanych wyników stwierdzono, że zarówno stopień rozdrobnienia, jak i wielkość dodatku preparatu enzymatycznego oraz czas działania enzymu miały istotny ($\alpha = 0,05$) wpływ na teksturę modelowych farszów z mięsa kurcząt z obniżoną ilością soli kuchennej.

Parametr a^* barwy, określający udział barwy czerwonej przybierał wartości z przedziału 11,2–13,2 (rys. 3, 4, 5). Wartość najniższą tego parametru barwy uzyskał farsz grubo rozdrobniony, wytwarzany z 0,3% dodatkiem preparatu enzymatycznego, po 4 h jego działania (wariant II, rys. 4). Natomiast najwyższą wartością a^* charakteryzował się farsz grubo rozdrobniony poddany czterogodzinnemu działaniu enzymu, lecz z mniejszym (0,2%) dodatkiem preparatu enzymatycznego (wariant I, rys. 4).



Rys. 3. Parametry barwy farszów z mięsa kurcząt o różnym stopniu rozdrobnienia w zależności od wielkości dodatku transglutaminazy po 30 min działania enzymu. Opis wariantów jak w tab. 1.

Fig. 3. Colour values of chicken meat batters after 30 min of enzyme acting. Description of variants in Tab. 1.

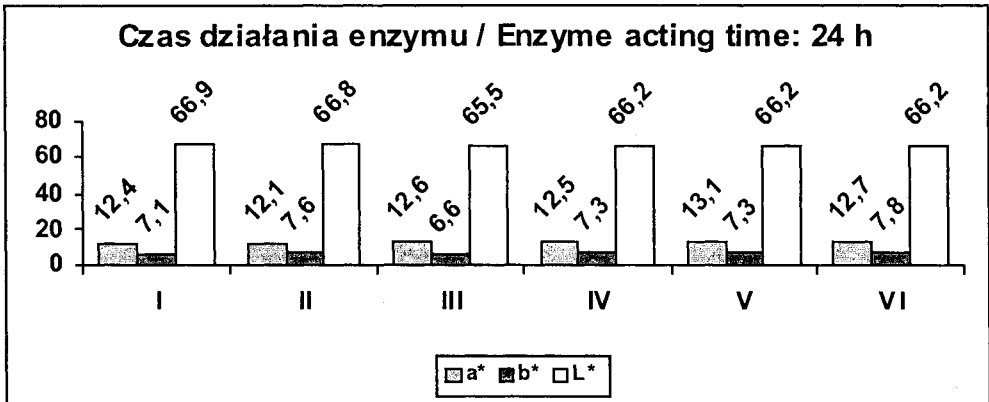


Rys. 4. Parametry barwy farszów z mięsa kurcząt o różnym stopniu rozdrobnienia w zależności od wielkości dodatku transglutaminazy po 4 h działania enzymu.

Opis wariantów jak w tab. 1.

Fig. 4. Colour values of chicken meat batters after 4 h enzyme acting.

Description of variants in Tab. 1.



Rys. 5. Parametry barwy farszów z mięsa kurcząt o różnym stopniu rozdrobnienia w zależności od wielkości dodatku transglutaminazy po 24 h działania enzymu.

Opis wariantów jak w tab. 1.

Fig. 5. Colour values of chicken meat batters after 24 h of enzyme acting.

Description of variants in Tab. 1.

Nie stwierdzono istotnego statystycznie ($\alpha = 0,05$) wpływu stopnia rozdrobnienia mięsa ani czasu działania enzymu na wartość składowej a^* barwy farszów z mięśni udowych kurcząt. Pomimo tego, iż różnice wartości parametru barwy a^* nie były znaczne (do dwóch jednostek), to stwierdzono istotny ($\alpha = 0,05$) wpływ wielkości dodatku transglutaminazy na udział czerwieni w barwie farszów. Większy dodatek preparatu enzymatycznego (0,3% w porównaniu z 0,2%) powodował obniżenie warto-

ści tej składowej barwy. Największe różnice wartości tego parametru stwierdzono w farszach grubo rozdrobnionych. Składowa a^* barwy przyjmowała wartości od 11,2 do 12,1 w przypadku farszu z większym dodatkiem TG (0,3%) oraz od 12,3 do 13,2 w farszu ze zmniejszonym dodatkiem enzymu (0,2%).

Wartości parametru b^* , określającego udział barwy żółtej, wynosiły od 6,6 w odniesieniu do farszu o średnim stopniu rozdrobnienia z 0,2% dodatkiem preparatu transglutaminazy po 24 h działania enzymu (wariant III, rys. 5), do 8,0 – farsz drobno rozdrobniony z większym (0,3%) dodatkiem preparatu po 4 h jego działania (wariant VI, rys. 4).

Stwierdzono, podobnie jak w przypadku parametru barwy a^* , istotny ($\alpha = 0,05$) wpływ wielkości dodatku preparatu enzymatycznego na udział barwy żółtej w barwie farszu. Stopień rozdrobnienia i czas działania enzymu nie różnicowały natomiast wartości tego parametru barwy. Wraz ze zwiększeniem wielkości dodatku preparatu enzymatycznego, wzrastał udział składowej żółtej w barwie farszów. Różnice pomiędzy wartościami barwy żółtej farszów z mniejszym (0,2%) oraz większym (0,3%) dodatkiem transglutaminazy, wynosiły 0,2–0,7 jednostki.

Wartości średnie parametru L^* barwy zawierały się w przedziale od 65,5 do 68,3 (rys. 3, 4, 5). Wartość najniższą składowej L^* uzyskał farsz średnio rozdrobniony z 0,2% dodatkiem preparatu TG po 24 h działania enzymu. Farsz grubo rozdrobniony z 0,3% dodatkiem preparatu enzymatycznego po 4 h działania charakteryzował się największą wartością tego parametru barwy (najjaśniejszą barwą; wariant II, rys. 5).

Wielkość dodatku preparatu enzymatycznego nie różnicowała jasności barwy farszów z obniżoną zawartością chlorku sodu przy tym samym stopniu rozdrobnienia mięsa. Wydłużenie czasu działania enzymu powodowało jedynie nieznaczne pociemnienie barwy farszów. Prawdopodobnie związane to było z większym stopniem prze-reagowania barwników podczas procesu peklowania. Największe zmiany zaobserwowano po wydłużeniu czasu przechowywania farszów (z 30 min do 4 h) [3, 4].

Wnioski

1. Ilość wycieku termicznego w modelowych farszach z mięśni udowych kurcząt malała wraz ze wzrostem stopnia rozdrobnienia. Zwiększenie wielkości dodatku preparatu transglutaminazy (z 0,2 do 0,3%) oraz wydłużenie czasu jej działania powodowało niewielki, lecz istotny wzrost ilości wycieku po obróbce cieplnej farszów z obniżoną zawartością NaCl.
2. Maksymalna siła penetracji przyjmowała wartości istotnie wyższe w farszach o większym stopniu rozdrobnienia i dłuższym czasie działania enzymu. Zwiększenie wielkości dodatku preparatu transglutaminazy powodowało istotną poprawę tekstury farszów drobiowych.

3. Udział barwy czerwonej (parametr a^*) utrzymywał się na zbliżonym poziomie, niezależnie od stopnia rozdrobnienia mięsa oraz czasu działania enzymu. Zwiększenie udziału transglutaminazy powodowało, zwłaszcza w przypadku farszów grubo rozdrobnionych, zmniejszenie udziału tej barwy.
4. Farsze wytworzone z większym udziałem preparatu enzymatycznego charakteryzowały się istotnie wyższymi wartościami parametru b^* barwy, niezależnie od stopnia rozdrobnienia mięsa czy też czasu działania enzymu.
5. Wydłużenie czasu działania enzymu spowodowało nieznaczne, lecz istotne pociemnienie barwy farszów drobiowych (obniżenie wartości parametru L^*). Zwiększenie wielkości dodatku preparatu transglutaminazy do farszów nie różnicowało tego parametru barwy.
6. Ze względów technologicznych wielkość dodatku transglutaminazy w ilości 0,2% w stosunku do masy farszu byłaby wystarczająca (kształtowanie pożądaney tekstury produktu z mięsa drobiowego, mniejsza ilość wycieku, brak niekorzystnych zmian w barwie). Czas działania enzymu (w przypadku wytwarzania farszów równoznaczny z czasem peklowania) mógłby wynosić 4 h, gdyż dalsze jego wydłużenie nie powodowało wyraźnej poprawy parametrów jakości badanych farszów.

Literatura

- [1] Baryłko-Pikielna N., Lisowska G.: Potrzeby i możliwości obniżenia sodu w żywności. *Przem. Spoż.*, 1987, **6** (41), 151-153.
- [2] Cegiełka A., Arciszewska A., Mroczek J.: Wpływ wielkości dodatku soli kuchennej i stopnia rozdrobnienia mięsa na właściwości farszów drobiowych z transglutaminazą. *Mięso i Wędliny*, 2003, **4**, 28-36.
- [3] Duda Z.: Dodatki w przetwórstwie mięsa. *Mięso i Wędliny*, 2003, **3**, 12-14.
- [4] Hammer G. F.: Mikrobielle Transglutaminase und Diphosphat bei feinerkleinerter Brühwurst. *Fleischwirt.*, 1998, **11** (78), 1155-1162.
- [5] Kijowski J.: Właściwości funkcjonalne mięsa drobiowego. *Polskie Drobiarstwo*, 1993, **2** (11), 7-10.
- [6] Kijowski J.: Wartość żywieniowa mięsa drobiowego. *Przem. Spoż.*, 2000, **3** (54), 10-11.
- [7] Krakowiak A., Czakaj J.: Niektóre zastosowania mikrobiologicznej transglutaminazy w przemyśle spożywczym. *Przem. Spoż.*, 1999, **1** (52), 36-38.
- [8] Kuraishi C., Sakamoto J., Soeda T.: Anwendung von Transglutaminase für die Fleischverarbeitug. *Fleischwirtschaft*, 1998, **6** (78), 657- 658.
- [9] Millet P.: Enzymes: un coup de pouce à la naturalité! *Arômes Ingrédients Additifs*, 1998, **7** (18), 37-40.
- [10] Nielsen P. M.: Reactions and potencial industrial applications of transglutaminase. *Review of literature and patents. Food Biotechnol.*, **9** (3), 119-156.
- [11] Ostrowska A., Olkiewicz M.: Zmiany stopnia związania bloku szynki modelowej z mięsa normalnego i PSE pod wpływem transglutaminazy. *Materiały XXXII Sesji Nauk. KTChŻ PAN*, Warszawa 2001.
- [12] Pietrasik Z., Duda Z.: Dodatki funkcjonalne w przetwórstwie mięsa w perspektywie XXI wieku, *Med. Wet.*, 1999, **55** (8), 501-506.

- [13] Słowiński M., Mroczek J.: Wybrane problemy jakości w przetwórstwie mięsa drobiowego. Przem. Spoż. 1997, **1** (50), 12-16.
- [14] Zhu Y., Rinzema A., Tramper J., Bolo J.: Microbial transglutaminase - a review of its production and application in food processing. Appl. Microbiol. Biotechnol., 1995, **44**, 277-282.
- [15] Ziemiański Ś.: Żywnienie a zdrowie. Przem. Spoż., 1996, **50** (10), 4-9.

**EFFECT OF TRANSGLUTAMINASE LEVEL, ENZYME ACTING TIME
AND COMMINUTION METHOD ON PROPERTIES OF CHICKEN BATTERS
WITH DECREASED AMOUNT OF SODIUM CHLORIDE**

S u m m a r y

The aim of this paper was to determine the influence of transglutaminase addition (0,2; 0,3%), enzyme acting time and comminution method on selected properties of model batters from chicken meat with decreased amount of sodium chloride (1,5%).

In the batters stored in refrigerated conditions for 30 minutes, 4 hours and 24 hours (time of enzyme acting), cooking losses decreased with higher comminution of meat.

It was found that smaller meat particle size decreased cooking loss. The increase of transglutaminase level and the increase of enzyme acting time caused the greater cooking loss and improvement of texture parameters. Hardness of batters with smaller particle size was higher irrespective of enzyme acting time. The result of increased amount of enzyme was the deterioration in colour.

Key words: transglutaminase, chicken meat, cooking loss, texture, colour, decreased amount of sodium chloride. ☒

ANNA FABISIAK, DOROTA WITROWA-RAJCHERT, JOANNA GŁUSZKO

WPLYW TEMPERATURY NA WYBRANE WŁAŚCIWOŚCI JABŁEK SUSZONYCH KONWEKCYJNIE I SUBLIMACYJNIE

Streszczenie

Celem podjętych badań było określenie wpływu temperatury odwadniania na przebieg rehydracji i właściwości higroskopijne jabłek suszonych sublimacyjnie i konwekcyjnie. Wpływ temperatury na przyrost masy oraz ubytek rozpuszczalnych składników suchej substancji podczas rehydracji suszu konwekcyjnego był nieznaczny. Jednak zaobserwowano tendencję, że wzrost temperatury powietrza suszącego spowodował mniejsze przyrosty masy suszonych jabłek. Wyraźniejszy wpływ temperatury, szczególnie w odniesieniu do przyrostów masy, stwierdzono w przypadku uwadniania suszy sublimacyjnych. Ich masa podczas rehydracji zwiększała się bardziej w materiale suszonym w wyższej temperaturze (w 40°C – ponad pięciokrotnie; w 10°C – ponad czterokrotnie), czyli odwrotnie niż w suszu jabłek suszonych konwekcyjnie. Wyniki te znalazły potwierdzenie w analizie kinetyki sorpcji, w której wykazano, że wzrost temperatury płyty grzejnej spowodował wzrost ilości wchłoniętej pary wodnej przez susz sublimacyjny od 0,33 (temp. 10°C) do 0,56 g/g s.s. (temp. 40°C). Wywołane wyższą temperaturą suszenia zmiany w biopolimerach były prawdopodobnie przyczyną obniżenia zdolności do wiązania wody suszu konwekcyjnego, który wchłonał od 0,03 (temp. 80°C) do 0,15 g/g s.s. (temp. 60°C) pary wodnej.

Słowa kluczowe: suszenie konwekcyjne, suszenie sublimacyjne, temperatura, rehydracja, właściwości sorpcyjne.

Wprowadzenie

Usuwanie wody z produktów spożywczych prowadzi najczęściej do znacznego zmniejszenia ich wartości odżywczej i pogorszenia cech sensorycznych. Jest to spowodowane reakcjami chemicznymi i biochemicznymi oraz zmianami fizycznymi.

W procesie suszenia sublimacyjnego, z powodu nieobecności wody w fazie ciekłej i niskiej temperatury procesu, większość niepożądanych reakcji nie przebiega i w efekcie otrzymuje się produkt o bardzo dobrej jakości oraz o zachowanej pierwot-

nej strukturze i kształcie. Liofilizacja jest uważana za najlepszą metodę suszenia w aspekcie jakości gotowego produktu [3, 4]. Straty witamin podczas liofilizacji kształtują się najczęściej na poziomie kilku procent, podczas gdy susze otrzymane metodą konwekcyjną tracą, w zależności od rodzaju surowca, od 20 do 80% witamin [5, 14]. Produkty suszone sublimacyjnie charakteryzują się zdolnością rehydracji 2–6 razy większą niż żywność suszona konwekcyjnie w podwyższonej temperaturze [7–9]. Ważnym wyznacznikiem jakości żywności jest barwa. Również z tego punktu widzenia suszenie sublimacyjne, powodując na ogół nieznaczną zmianę barwy, jest metodą lepszą od suszenia konwekcyjnego, w czasie którego straty barwników dochodzą nawet do 70% [5, 13].

Skurcz w czasie suszenia sublimacyjnego jest minimalny (od 5 do 15%), a podczas suszenia konwekcyjnego znaczący (dochodzący do 80%) [8–11]. Od zmian strukturalnych wewnątrz produktu uzależniona jest utrata aromatu, będącego istotnym wyznacznikiem jakości żywności suszonej. Powszechnie wiadomo, że liofilizacja umożliwia najlepszą retencję związków aromatycznych i zapachowych.

Mimo niewątpliwych zalet, liofilizacja jest najdroższą metodą wytwarzania suszonych produktów. Jej koszt zależy od rodzaju surowca, sposobu pakowania, wydajności urządzenia, czasu procesu itp. [10, 15]. W porównaniu z suszeniem konwekcyjnym koszty procesu liofilizacji są 4–8 razy wyższe [2]. Z tego między innymi powodu liofilizacja nie jest szeroko stosowana w przemyśle spożywczym. Wykorzystuje się tę metodę przede wszystkim do suszenia kawy, przypraw, mięsa (głównie na potrzeby wojska) oraz do otrzymywania różnych komponentów wchodzących w skład żywności typu „instant” [13].

Ze względu na wzrastające możliwości techniczne, konieczność zmniejszania zużycia energii, uwarunkowania dotyczące ochrony środowiska oraz coraz większe wymagania dotyczące jakości suszonych produktów spożywczych, istnieje potrzeba prowadzenia badań nad możliwością użycia nowych sposobów usuwania wody. Rozpoczęto badania nad zastosowaniem mieszanej techniki suszenia, polegającej na płytkim zamrażaniu ($\sim -10^{\circ}\text{C}$) i suszeniu produktu pod ciśnieniem atmosferycznym, a następnie po osiągnięciu przez produkt wilgotności krytycznej (odpowiadającej powstaniu sztywnego produktu, co ogranicza lub likwiduje jego skurcz), zwiększeniu temperatury procesu do kilku lub kilkunastu stopni Celsjusza powyżej zera i prowadzenie go aż do osiągnięcia żądanej wilgotności końcowej produktu. Wykorzystanie płytkiego zamrażania i suszenia pod normalnym ciśnieniem z zastosowaniem pompy ciepła pozwala drastycznie zmniejszyć energochłonność procesu przy zachowaniu zalet liofilizacji [1]. Stanowisko prototypowe do prowadzenia takich badań jest obecnie wykonywane na Wydziale Inżynierii Procesowej i Ochrony Środowiska Politechniki Łódzkiej.

Zadaniem procesów utrwalania żywności jest przedłużenie trwałości produktów spożywczych, dlatego też nieodzownym elementem procesów suszenia jest poznanie

relacji między ilością usuwanej wody oraz jej wpływem na procesy fizyczne, chemiczne i biologiczne. Jednym z ważniejszych parametrów charakteryzujących materiały suszone jest ich zdolność do rekonstytucji. Rehydracja jest procesem chłonięcia wody przez wysuszony produkt i jej przebieg świadczy o stopniu zniszczenia surowca w trakcie suszenia [16]. Właściwości higroskopijne suszonych produktów, oceniane na podstawie kinetyki adsorpcji pary wodnej, też mogą być wskaźnikiem zmian zachodzących w materiale roślinnym w czasie suszenia.

Celem badań było przeanalizowanie wpływu temperatury usuwania wody na przebieg rehydracji i właściwości higroskopijne jabłek suszonych metodą konwekcyjną i sublimacyjną.

Materiał i metody badań

Surowcem do badań były jabłka odmiany Idared. Materiał krojono w kostki o boku 1 cm i poddawano dwóm różnym metodom suszenia. Suszenie konwekcyjne prowadzono w suszarce laboratoryjnej, stosując temperaturę powietrza 80, 70 i 60°C i prędkość przepływu 2 m/s. Natomiast suszenie sublimacyjne wykonywano w suszarce Christ LOC-1m firmy ALPHA 1-4, w której kontaktowo ogrzewano próbki w temp. półki 10, 25 oraz 40°C (przed suszeniem materiał zamrożono konwekcyjnie przy użyciu powietrza o temp. -20°C przez 24 h). Suszenie prowadzono do stałej masy.

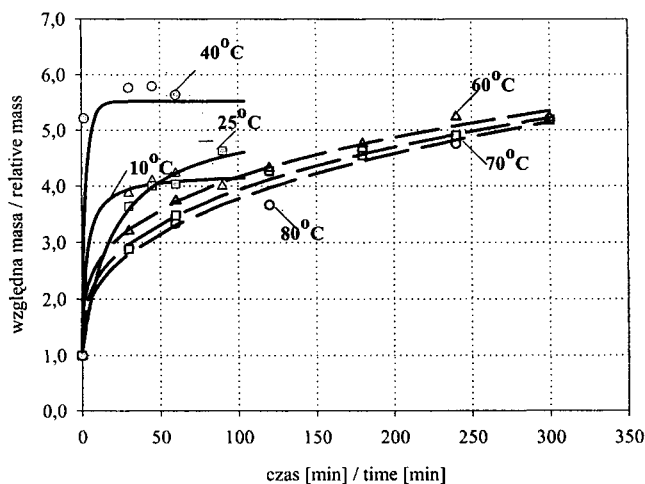
Produkty suszone konwekcyjnie poddawano rehydracji w wodzie destylowanej w temp. pokojowej ($20 \pm 2^\circ\text{C}$) przez 0,5; 1; 2; 3; 4 i 5 h. Natomiast czas rehydracji jabłek po suszeniu sublimacyjnym wynosił odpowiednio 30, 45, 60 i 90 min. Po każdym czasie rehydracji oznaczano masę materiału i zawartość suchej substancji zgodnie z PN-90/A-75101/03 [12].

Kinetykę adsorpcji pary wodnej oznaczano korzystając ze stanowiska konstrukcji własnej, zapewniającego ciągły pomiar zmian masy próbek. Do badań użyto wagi przystosowanej do pracy ciągłej w warunkach stałej temperatury i wilgotności względnej powietrza. Kinetykę adsorpcji pary wodnej prowadzono przy aktywności wody środowiska równej 1, w temp. 25°C przez 24 h. Jako czynnik higrostatyczny stosowano wodę destylowaną. Próbkę do badań kinetycznych stanowiły 4 kostki jabłka suszonego konwekcyjnie lub sublimacyjnie, które przed każdym doświadczeniem dosuszano w suszarce próżniowej w temp. 70°C, pod ciśnieniem 0,27 kPa przez 9 h. Po umieszczeniu próbki w higroście zmianę jej masy rejestrowano za pomocą programu komputerowego POMIAR.

Wyniki i dyskusja

Z teoretycznego punktu widzenia rehydracja jest procesem odwrotnym do suszenia, ale nawet po nieskończenie długim czasie przebywania w wodzie materiał nie powraca do właściwości, jakimi charakteryzował się surowiec [16].

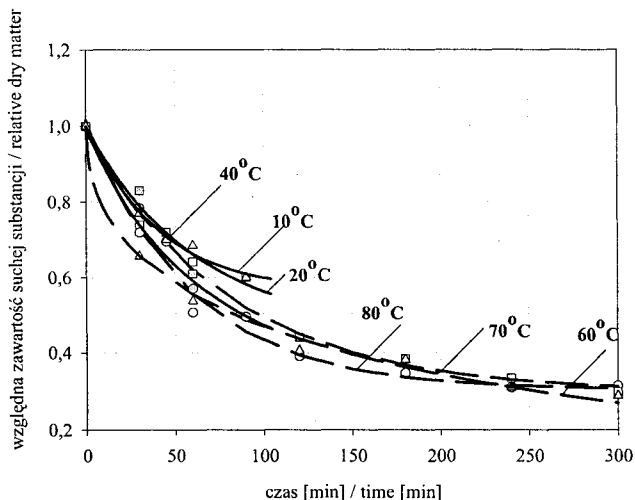
Na rys. 1 przedstawiono względny przyrost masy kostek suszonego jabłka w czasie rehydracji. Wnikanie wody do wnętrza materiału przebiega początkowo na zasadzie ssania kapilarnego, a następnie dyfuzji, co prowadzi do przyrostu masy. Analizując kinetykę zmian względnej masy jabłek suszonych konwekcyjnie można stwierdzić, że zwiększyła się ona po 5 h rehydracji ponad 5-krotnie. Jednak materiał nie osiągnął masy sprzed procesu suszenia, co jest wynikiem uszkodzenia struktury i spadku możliwości wiązania wody. Różnice w przebiegu rehydracji jabłek suszonych konwekcyjnie w różnej temperaturze są nieznaczne. Można jednak zaobserwować tendencję, że wyższa temperatura podczas suszenia spowodowała mniejsze przyrosty masy podczas uwadniania. Bardziej zróżnicowany wpływ temperatury usuwania wody na przebieg wchłaniania wody zauważono w próbach suszonych sublimacyjnie. Z uwagi na specyficzną właściwość suszu sublimacyjnego, a mianowicie jego dużą porowatość, proces przyrostu masy przebiegał szybciej niż w suszu konwekcyjnym. Po 30 min rehydracji masa jabłek suszonych konwekcyjnie zwiększyła się około 3-krotnie, zaś suszonych sublimacyjnie ponad 4-krotnie, gdy temp. półki wynosiła 10 i 25°C i ponad 5-krotnie, stosując temp. 40°C.



Rys. 1. Przyrost masy jabłek suszonych konwekcyjnie (linie przerywane) i sublimacyjnie (linie ciągłe) w czasie rehydracji.

Fig. 1. The increase in a mass apples that have been convective-dried (dashed lines) and freeze-dried (continuous lines) during the re-hydration.

Tak więc materiał otrzymany w wyższej temperaturze półek chłonie więcej wody, czyli odwrotnie niż w przypadku suszu konwekcyjnego, a wpływ temperatury suszenia na przyrost masy w czasie rehydracji jest bardziej wyraźny niż w jabłkach otrzymanych metodą konwekcyjną.



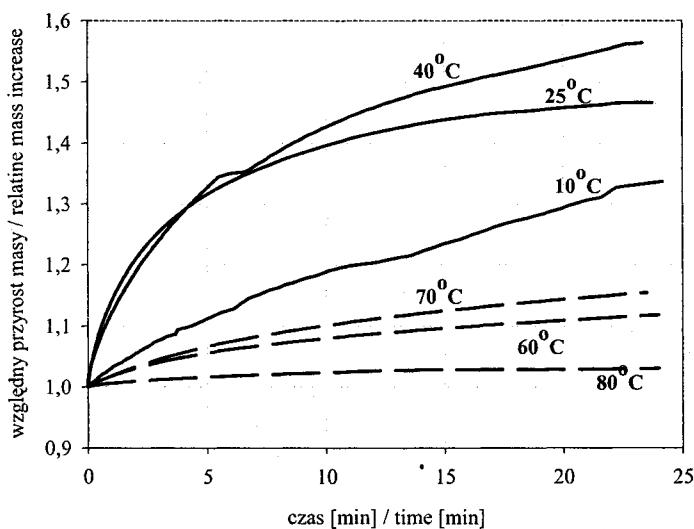
Rys. 2. Względna zawartość suchej substancji w jabłkach suszonych konwekcyjnie (linie przerywane) i sublimacyjnie (linie ciągłe) w czasie rehydracji.

Fig. 2. A relative dry matter content in apples that have been convective-dried (dashed lines) and freeze-dried (continuous lines) during the re-hydration.

Ze zmianami masy materiału w czasie związane jest zjawisko ruchu substancji rozpuszczalnych w wodzie (rys. 2). Substancje zawarte w materiale dyfundują na zewnątrz. Zmiana temperatury suszenia konwekcyjnego nie wpłynęła na ilość rozpuszczalnych składników suchej substancji dyfundujących do otaczającego środowiska. Po 5 h przebywania w wodzie, w jabłku, niezależnie od temperatury suszenia, pozostawało około 30% suchej substancji. Podobnie nie stwierdzono statystycznie istotnych różnic w ilości dyfundującej suchej substancji z suszy sublimacyjnych, stosując temp. płyty 10 i 25°C, w których po 90 min uwadniania pozostało około 60% początkowej suchej substancji. Jednak, gdy temp. płyty grzejnej wynosiła 40°C, ilość wypływającej z materiału suchej substancji zwiększyła się i w jabłku pozostało jej około 50%. Odpowiednia wartość w przypadku suszu konwekcyjnego wynosiła około 45%. Mniejsze ubytki rozpuszczalnych składników suchej substancji z suszu sublimacyjnego świadczą o tym, że taki sposób suszenia, szczególnie prowadzony w niskiej temperaturze, w większym stopniu zachowuje półprzepuszczalny charakter błon, ograniczając możliwość migracji składników soku komórkowego, mimo że penetracja wody wewnątrz tkanki jest ułatwiona z uwagi na znaczącą porowatość takiego materiału.

Właściwości higroskopijne suszu zależały od zastosowanej metody usuwania wody i temperatury procesu (rys. 3). Utrata wody i przemieszczanie się związków rozpuszczalnych w wodzie podczas suszenia konwekcyjnego są przyczyną usztywnienia ścian komórkowych [16]. Wytworzenie zewnętrznej warstwy powoduje, że susz jest mniej podatny na chłonięcie pary wodnej. W wyniku suszenia tkanki mięksiszowej metodą tradycyjną usunięta zostaje głównie woda z wakuoli. Niewielkie zmiany występują w cytoplazmie i ścianach komórkowych. Dlatego też duża ich elastyczność przyczynia się do skurczu materiału [11].

Niewielki, ok. 4% skurcz suszu sublimacyjnego, w porównaniu z 77% skurczem konwekcyjnym, spowodował większą porowatość takiego suszu, co doprowadziło do szybszego chłonięcia pary wodnej. Podobnie jak w przypadku rehydracji, wyższa temperatura płyty grzejnej w czasie suszenia sublimacyjnego powodowała wzrost ilości wchłanianej przez materiał pary wodnej. I tak, w temp. 10, 25 i 40°C każdy 1 g suchej substancji absorbował w ciągu 24 h odpowiednio około 0,33; 0,47 i 0,56 g wody. Niższe wartości, a jednocześnie mniej znaczący wpływ temperatury procesu, uzyskano w przypadku suszu konwekcyjnego. Zmiana temp. z 60 do 70°C nie wpłynęła w istotny sposób na ilość wchłanianej wody i po 24 h każdy 1 g suchej substancji wchłoniął odpowiednio około 0,12 i 0,15 g wody.



Rys. 3. Kinetyka adsorpcji pary wodnej jabłek suszonych konwekcyjnie (linie przerywane) i sublimacyjnie (linie ciągłe).

Fig. 3. The adsorption kinetics of water vapour in apples that have been convective-dried (dashed lines) and freeze-dried (continuous lines).

Prowadzenie procesu suszenia konwekcyjnego w temp. 80°C przyczynia się do zwiększenia sztywności materiału i obniżenia zdolności biopolimerów do wiązania wody. Następstwem tych procesów było zmniejszenie zdolności chłonięcia wody, które wyniosło po 24 h jedynie około 0,03 g/g s.s.

Przyrost masy wywołany zarówno wchłanianiem wody podczas rehydracji, jak i adsorpcją pary wodnej zależał od temperatury usuwania wody. Kierunek zmian spowodowanych różnicowaną temperaturą był identyczny w obydwu badanych procesach. Zwiększenie temperatury podczas suszenia konwekcyjnego i sublimacyjnego w odwrotny sposób wpływało na badane przyrosty masy. Wyjaśnienie tego zjawiska wymaga jednak dalszych badań, np.: określenia wpływu temperatury procesu na zmiany strukturalne w materiale, które w znacznym stopniu są odpowiedzialne za wchłanianie i wiązanie wody przez susz.

Prezentowane w niniejszym artykule wyniki są wybranymi badaniami jakościowymi, które w przyszłości posłużą do oceny porównawczej suszy otrzymanych metodą konwekcyjną, sublimacyjną i suszenia niskotemperaturowego z wykorzystaniem pompy ciepła.

Wnioski

1. Różnice w przebiegu rehydracji jabłek suszonych konwekcyjnie w trzech zakresach temperatury są nieznaczne. Można jednak zaobserwować tendencję, że wyższa temperatura powietrza spowodowała mniejsze przyrosty masy podczas uwadniania. Przyrost masy suszu sublimacyjnego przebiegał szybciej niż suszu konwekcyjnego. Materiał otrzymany w wyższych zakresach temperatury pólka chłonał więcej wody, czyli odwrotnie niż w przypadku suszu konwekcyjnego, a wpływ temperatury suszenia na przyrost masy w czasie rehydracji był istotny.
2. Zmiana temperatury suszenia konwekcyjnego nie wpłynęła na ilość rozpuszczalnych składników suchej substancji, dyfundujących do otaczającego środowiska. Nie stwierdzono również istotnych różnic w ilości dyfundującej suchej substancji z suszy sublimacyjnych, w przypadku których zastosowano temperaturę płyty 10 i 25°C. Jednak gdy tę temperaturę podniesiono do 40°C, ilość wypływającej z materiału suchej substancji zwiększyła się. Jednocześnie susz sublimacyjny charakteryzował się mniejszymi ubytkami rozpuszczalnych składników niż jabłko suszone konwekcyjnie.
3. Susz sublimacyjny szybciej chłonał parę wodną niż konwekcyjny. Podobnie jak w przypadku rehydracji, wyższa temperatura płyty grzejnej w czasie suszenia sublimacyjnego powodowała wzrost ilości wchłanianej przez materiał pary wodnej. Mniej znaczący wpływ temperatury procesu uzyskano w przypadku suszu konwekcyjnego, ale prowadzenie tego suszenia w wyższej temperaturze powodowało znaczne zmniejszenie zdolności chłonięcia wody.

Praca została wykonywana w ramach grantu 4T 09C 04823, finansowanego przez KBN.

Literatura

- [1] Alves-Filho O., Eikevik T., Strommen I., Kelleher S.D., Feng Y., Hultin H.O.: Heat pump drying of cod protein isolates. Proceedings of NDC'01 Trondheim, Norway, 2001, **6**, 27-29.
- [2] Flink J.M.: Energy analysis in dehydration processes. Food Technol. 1997, **31** (4), 77-79.
- [3] Genin N., René F.: Analyse du rôle de la transition vitreuse dans les procédés de conservation agro-alimentaires. J. Food Engng., 1995, **26**, 391-408.
- [4] Irzyniec Z., Klimczak J., Michałowski S.: Freeze-drying of black currant juice. Drying Technol., 1995, **13** (1,2), 417-424.
- [5] Jayaraman K.S., Das Gupta D.K.: Drying of fruits and vegetables. Handbook of industrial drying (ed. A.S. Mujumdar), Marcel Dekker Inc., New York 1995.
- [6] Karathaos V., Anglea S., Karel M.: Collapse of structure during drying of celery. Drying Technol., 1993, **11** (5), 417-424.
- [7] Le Loch-Banazzi C., Wolff E., Gibert H.: Quality of dehydrated cultivated mushrooms (*Agaricus bisporus*): Comparison between different drying and freeze-drying processes. Lebensm. Wiss. Technol., 1992, **25**, 334-339.
- [8] Lin T. M., Durance T. D.: Characterization of vacuum microwave, air, and freeze-drying carrot slices. Food Res. Int., 1998, **31** (2), 111-117.
- [9] Litvin S., Mannheim C. H., Miltz J.: Dehydration of carrots by a combination of freeze-drying microwave heating, air or vacuum drying. J. Food Engng., 1998, **36**, 103-111.
- [10] Lorentzen J.: Freeze-drying of foodstuffs, quality and economics of freeze-drying. Chem. Ind., 1979, **14**, 465-468.
- [11] Lozano J.E., Rotstein E., Urbicain M.J.: Shrinkage, porosity and bulk density of foodstuffs at changing moisture content. J. Food Sci., 1983, **48**, 1367-1371.
- [12] PN-90/A-75101/03. Przetwory owocowe i warzywne. Oznaczanie zawartości suchej masy metodą wagową.
- [13] Ratti C.: Hot air and freeze-drying of high-value foods: a review. J. Food Engng., 2001, **49**, 311-319.
- [14] Shadle E.R., Burns E.E., Talley L.J.: Forced air drying of partially freeze-dried compressed carrot bars. J. Food Sci., 1983, **48**, 193-197.
- [15] Sunderland J.E.: An economic study of microwave freeze-drying. Food Technol., 1982, **36** (2), 52-54, 56.
- [16] Witrowa-Rajchert D.: Rehydracja jako wskaźnik zmian zachodzących w tkance roślinnej w czasie suszenia. Wydawnictwo Fundacja „Rozwój SGGW”, Warszawa 1999.

THE EFFECT OF TEMPERATURE ON SOME SELECTED PROPERTIES OF CONVECTIVE-DRIED AND FREEZE-DRIED APPLES

Summary

The objective of this work was to investigate the impact of temperature on the rehydration and sorption properties of the convective-dried and freeze-dried apples. The effect of temperature on mass increase and soluble leakage during the re-hydration of convective-dried fruits was insignificant. However, it was stated that the higher temperature of drying air caused the smaller increase in mass of apples being dried.

While analyzing the increase in the mass of apples being dried, it was stated that the impact of temperature was more apparent in a case when the freeze-dried material was watered. The apple mass increased stronger in the material being dried at higher temperatures (at 40°C – more than 5 times; at 10°C – more than 4 times), i.e. differently (inversely) than in case of convective-dried apples. The water vapor sorption analysis served as a confirmation of the results obtained: it proved that the freeze-dried apples absorbed a higher quantity of water vapor ranging from 0.33 (at a temperature of 10°C) to 0.56 g/g d.m. (at a temperature of 40°C) when the temperature of a heating plate increased. Changes generated in the bio-polimers by a higher temperature of the drying process could be a reason that the water bonding ability of convective-dried material became reduced. The material absorbed water vapor amounting from 0.03 (temperature of 80°C) up to 0.15 g/g d.m. (temperature of 60°C).

Key words: freeze-drying, convection drying, temperature, rehydration, sorption properties. ☒

ILONA GAŁĄZKA, ROBERT KLEWICKI, KATARZYNA ŚLIŻEWSKA

ZDOLNOŚĆ WYBRANYCH SZCZEPÓW *LACTOBACILLUS* SP. DO FERMENTOWANIA OLIGOSACHARYDÓW I OLIGOPOLIOLI O ZRÓŻNICOWANYM STOPNIU POLIMERYZACJI

Streszczenie

Celem przeprowadzonych badań było określenie wzrostu i działania zakwaszającego (zdolności fermentowania) bakterii z rodzaju *Lactobacillus* w środowisku, do którego dodano fruktooligosacharydy i galaktozylopoliole.

Bakterie hodowano w pożywce MRS, w której źródłem węgla była glukoza. W części prób glukozę w pożywce MRS zastąpiono fruktooligosacharydami i galaktozylopoliolami. Metodą wysokosprawnej chromatografii cieczowej HPLC określono zawartość kwasu mlekowego i octowego, wyprodukowanego przez badane szczepy bakterii *Lactobacillus*.

Na podstawie doświadczenia stwierdzono, że bakterie z rodzaju *Lactobacillus* rosły w środowisku, do którego dodano preparaty fruktooligosacharydów i galaktozylopolioli. Wydajność biomasy *Lactobacillus* w środowisku z fruktooligosacharydami wynosiła od 0,57 g/l do 1,21 g/l, natomiast w środowisku z galaktozylopoliolami: od 0,37 g/l do 0,63 g/l.

W zależności od źródła węgla, wartości pH zawierały się w zakresie od 4,7 do 5,5, przy czym wartość początkowa pH wynosiła 5,7. Stosunek stężeń molowych kwasu octowego i mlekowego, wyprodukowanych przez *Lactobacillus*, mieścił się w zakresie od 0,02 do 0,3 i wykazywał tendencję do zwiększania się wraz ze wzrostem stopnia polimeryzacji oligomerów.

Badane szczepy bakterii z rodzaju *Lactobacillus* dwukrotnie lepiej wykorzystywały β -fruktooligosacharydy jako źródło węgla niż β -galaktozylopoliole.

Słowa kluczowe: oligosacharydy, oligopoliole, *Lactobacillus* spp., fermentacja.

Wstęp

Oligosacharydy podawane zwierzętom lub ludziom mogą dotrzeć do okrężnicy w postaci nierozłożonej, gdzie stanowią substrat węglowodanowy, szczególnie przydatny do wzrostu bakterii z rodzajów *Lactobacillus* i *Bifidobacterium*. Oligosacharydy stymulujące wzrost bifidobakterii, są nazywane „czynnikami bifidogennymi” [17, 18]. Fruktooligosacharydy oprócz właściwości bifidogennych mają również właściwości

prebiotyczne [6].

Fruktooligosacharydy (FOS) są polimerami β -fruktofuranozy połączonej wiązaniem β -(2 \rightarrow 1) z wiązaniami α -(1 \rightarrow 2) ostatniej cząsteczki glukopiranozy. Występują też polimery D-fruktofuranozy połączone z końcową resztą β -fruktopiranozy. Stopień polimeryzacji (DP) fruktooligosacharydów może wynosić od 2 do 70. Polimery o DP większym od 10 są określane jako inulina [3, 4, 13]. Fruktooligosacharydy (DP 2÷10), często nazywane oligofruktozą, są naturalnymi składnikami wielu roślin: cebuli, czosnku, pomidora i banana [12, 15]. Krótkołańcuchowe fruktooligosacharydy (FOS) o DP 3÷4 (określane jako novel sugar – nowe cukry) są produkowane na skalę przemysłową z sacharozy dzięki zastosowaniu β -fruktozylotransferazy uzyskanej z grzyba *Aspergillus niger*. Powstający produkt jest 0,4÷0,6 razy mniej słodki niż sacharoza [12, 15]. W licznych badaniach *in vitro*, wykonanych na wyizolowanych bakteriach wykazano, że fruktooligosacharydy mogą stanowić równie dobre źródło węgla jak glukoza. Hidaka i wsp. [8] opisali, że fruktooligosacharydy były wykorzystywane przez *Bifidobacterium sp.*, oprócz *Bifidobacterium bifidum*, a także przez *Bacteroides fragilis*, *Peptostreptococcus sp.*, nie były natomiast wykorzystywane przez *Escherichia coli*, *Clostridium perfringens*, *Eubacterium sp.* czy *Fusobacterium sp.* Bardzo ważnym aspektem stosowania fruktooligosacharydów jest ich efektywność i tolerancja [8]. Spożywanie fruktooligosacharydów zapobiega występowaniu biegunek. Codzienne spożywanie 5,0 g oligofruktozy przez 8 starszych pacjentów, u których wystąpiły autogenne biegunki (z występowaniem luźnego stolca) doprowadziło do normalizacji wypróżnień już po upływie 11 dni u wszystkich pacjentów [15]. Spożycie fruktooligosacharydów zwiększa masę wydalanego kału, co przeciwdziała zaparciom. Tego typu efekt obserwowano po podaniu wolontariuszom dawki 15 g fruktooligosacharydów dziennie, przy czym 1 g dodatku powodował wzrost masy kału o 1,5–2 g [6]. Hata i wsp. [7] wykazali natomiast, że codzienne spożywanie 6–12 g fruktooligosacharydów przez okres 2 tygodni do 3 miesięcy spowodowało obniżenie ogólnego poziomu cholesterolu w surowicy o 20–30%. Uważa się, że zmniejszenie poziomu cholesterolu w surowicy krwi było następstwem zmian układu mikroflory jelitowej [17].

Galaktozylopoliole powstają w wyniku hydrolizy laktozy z użyciem β -galaktozydazy w obecności polihydroksyalkoholi, takich jak: sorbitol, ksylitol, erytrytol, laktitol [11]. Sorbitol i ksylitol są wchłaniane w mniejszym stopniu z jelita cienkiego do krwiobiegu. Zasadnicza część tych poliolei przechodzi do jelita grubego, gdzie stają się one pożywką dla mikroflory jelitowej. Natomiast erytrytol wchłaniany jest w jelicie cienkim w ponad 90% [9]. Galaktozylopoliole nie są wchłaniane z jelita cienkiego do krwi, ponieważ wchłanianie dimerów musi być poprzedzone ich hydrolizą. Doświadczenia z laktitolem, związkiem o podobnej strukturze co galaktozyłowe pochodne sorbitolu, ksylitolu i erytrytolu, wykazały, że nie jest on hydrolizowany w jelicie cien-

kim i przechodzi do jelita grubego, gdzie przyczynia się do wzrostu liczebności populacji *Bifidobacterium* i *Lactobacillus* [1].

Celem pracy było określenie zdolności fermentowania β -fruktooligosacharydów (FOS) i β -galaktozylopolioli, o różnym stopniu polimeryzacji i różnego pochodzenia, przez wybrane szczepy bakterii z rodzaju *Lactobacillus*.

Materiał i metody badań

Materiał do badań stanowiły: kestoza (93%) (Politechnika Łódzka), preparaty fruktooligosacharydów: FOS Wako Pure (FOS-WP) (Wako Pure), oligofruktoza-NP (FOS PŁ-90) (Politechnika Łódzka), Raftilose P-95 (Orafti) oraz galaktozylopoliole: galaktozyloksylitol (GK), galaktozyloerytritol (GE), galaktozylolaktitol (GL) (Politechnika Łódzka). Niezbędne do doświadczeń β -fruktooligosacharydy i β -galaktozylopoliole otrzymano, na Politechnice Łódzkiej, w wyniku chromatografii preparatywnej z odpowiednich mieszanin oligosacharydów otrzymanych w procesie biotransformacji. W tab. 1. przedstawiono skład fruktooligosacharydów o zróżnicowanym stopniu polimeryzacji w badanych preparatach.

Materiał biologiczny stanowiły 3 szczepy bakterii z rodzaju *Lactobacillus*: *Lactobacillus acidophilus* Ros (otrzymany z Kolekcji Czystych Kultur Zakładu Rhodia-Food Biolacta w Olsztynie), *Lactobacillus casei* Shirota oraz *Lactobacillus rhamnosus* GG ATCC 53105 (szczepy referencyjne o uznanych właściwościach probiotycznych otrzymane z Collegium Medicum Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie). Inokulum stanowiła aktywna zawiesina bakterii o gęstości 10^7 jtk/ml. Stosowano 10% inokulum.

Hodowle bakterii prowadzono w pożywce MRS (wg de Man, Rogosa, Sharpe) [5], zawierającej glukozę jako źródło węgla. W doświadczeniach glukozę zastępowano odpowiednimi β -fruktooligosacharydami lub β -galaktozylopoliolami o zróżnicowanym stopniu polimeryzacji (tab. 1). Hodowle bakterii inkubowano przez 24 godz. w temp. 37°C w warunkach beztlenowych (inkubator z zastosowaniem CO_2 firmy WTB-binder). Po inkubacji dokonano pomiaru plonu biomasy bakterii metodą spektrofotometryczną (pomiar absorbancji przy długości fali $\lambda = 540$ nm) oraz kontroli aktywności kwaszącej metodą potencjometryczną.

Po zakończeniu inkubacji w próbkach zawierających mieszaniny fruktooligosacharydów różnego pochodzenia (FOS-WP, FOS PŁ-90, Raftilose P-95) oznaczano zawartość kwasu mlekowego i octowego metodą wysokosprawnej chromatografii cieczowej HPLC. Próbkę po 24 godz. okresie inkubacji wirowano (10000 obr./min, w czasie 10 min), a następnie supernatant filtrowano stosując filtry $0,45 \mu\text{m}$. Do oznaczenia zawartości kwasu mlekowego i octowego zastosowano chromatograf cieczowy HPLC firmy Knauer z oprogramowaniem Eurochrom 2000. Stosowano następujące warunki

analizy: kolumna Aminex HPX – 87H 300 x 7,8, detektor UV 210, faza ruchoma – 0,0044 mol/l H₂SO₄, przepływ – 0,6 ml/min, temp. 45°C. Ze względu na zawartość w pożywce MRS octanu sodu, zawartość kwasu mlekowego i octowego oznaczano na podstawie przyrostu powierzchni odpowiednich pików w podłożach przed i po fermentacji.

Tabela 1

Zawartość fruktooligosacharydów w badanych preparatach [%].
Content of fructooligosaccharides in preparations [%].

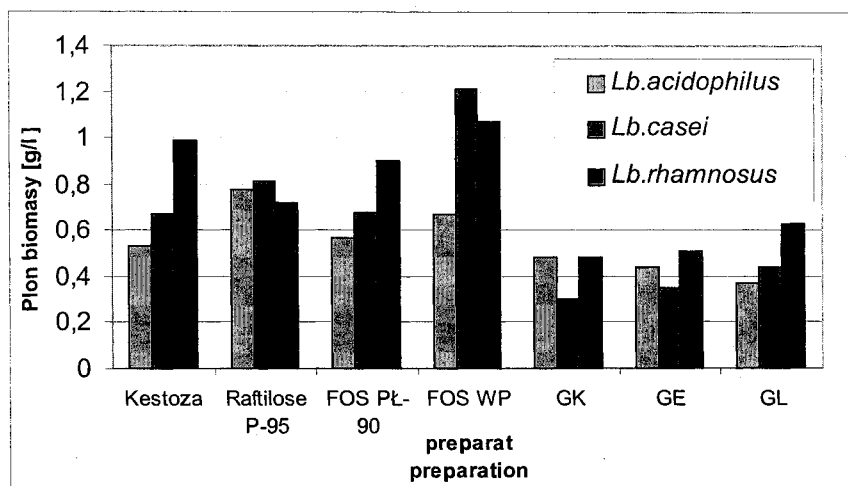
Składnik Component	Preparat / Preparation			
	Kestoza Kestose	FOS WP	FOS PŁ-90	Raftilose P-95
Fruktoza / Fructose	-	1,7	1,9	3,8
Glukoza /Glucose	0,3	0,5	3,7	-
Inulobioza / Inulobiose	-	-	-	3,8
Sacharoza / Sacharose	4,1	2,5	3,7	-
Inulotrioza DP3 Inulotriose	-	-	2,1	27,4
Kestoza DP 3/Kestose	93	37,0	21,7	-
Inulotetraoza DP 4 Inulotetraose	-	-	-	29,2
Nystoza DP 4 /Nystose	2,6	48,9	48,9	-
Inulopentaoza DP 5 Inulopentaose	-	-	-	10,4
Fuktozylonystoza DP 5 Fruktozylonystose	-	8,7	16,5	7,9
DP 6	-	0,8	1,7	13,0
DP 7	-	-	-	4,6

Wyniki przeprowadzonych badań są średnią arytmetyczną z dwóch równoległe wykonanych hodowli

Wyniki i dyskusja

Wszystkie badane bakterie z rodzaju *Lactobacillus* rosły na pożywkach zawierających zastosowane sacharydy i oligopoliole, jednak plony biomasy były zróżnicowa-

ne (rys. 1). Badane bakterie prawie dwukrotnie lepiej wykorzystywały β -fruktooligosacharydy jako źródło węgla niż β -galaktozylopoliole. Plon biomasy bakterii w pożywkach zawierających FOS wynosił od 0,57 do 1,21 g/l, natomiast w przypadku β -galaktozylopolioli od 0,37 do 0,63 g/l. Najwyższy plon biomasy, wynoszący od 0,68 do 1,22 g/l, otrzymano w pożywce zawierającej preparat FOS Wako Pure i był on niewiele niższy od uzyskanego w obecności pozostałych preparatów FOS.



Rys. 1. Plon biomasy bakterii z rodzaju *Lactobacillus*.

Fig. 1. Biomass yield of *Lactobacillus*.

W pożywkach MRS, zawierających preparaty β -galaktozylopolioli, plon badanych bakterii wynosił od 0,37 do 0,63 g/l. Bakterie *Lb. casei* i *Lb. rhamnosus* osiągnęły najwyższy plon biomasy, wynoszący od 0,44 do 0,63 g/l, w pożywce zawierającej β -galaktozylolaktitol, natomiast *Lb. acidophilus* w pożywce zawierającej galaktozyloksylitol (0,48 g/l).

W pożywkach zawierających preparaty FOS najwyższy oraz najniższy plon biomasy był charakterystyczny odpowiednio dla *Lb. casei* oraz *Lb. acidophilus*. Plon biomasy *Lb. rhamnosus* praktycznie nie zależał od zastosowanego preparatu FOS.

Niewiele badań dotyczy wpływu fruktooligosacharydów na wzrost bakterii z rodzaju *Lactobacillus*. Kaplan i Hutkins [10] wykazali zdolność wykorzystywania fruktooligosacharydów przez 12 z 16 szczepów *Lactobacillus* i 7 z 8 szczepów bifidobakterii. W licznych badaniach *in vitro* bakterii z rodzaju *Bifidobacterium* wykazano natomiast, że fruktooligosacharydy mogą stanowić równie dobre źródło węgla jak glukoza. Gibson i Roberfroid [6] po 24 godz. hodowli bifidobakterii *in vitro*, w podłożach zawierających różne źródła węgla, stwierdzili, że najlepiej wykorzystywane były: glu-

koza, oligofruktoza, fruktoza, sacharoza, najslabiej natomiast inulina. Bielecka i wsp. [2] stwierdzili, że większość badanych szczepów *Bifidobacterium*, należących do 9 gatunków, wykorzystywała fruktoooligosacharydy (FOS, oligofruktozę i niskopolimeryzowaną inulinę) jako substraty fermentacji, a wzrost szczepów *B. animalis*, *B. longum*, *B. catenulatum* był przez nie stymulowany. Brak jest danych literaturowych na temat wykorzystania galaktozylowych pochodnych polioli (ksylitol, erytrol, laktitol) przez bakterie z rodzaju *Lactobacillus*, natomiast sam laktitol, czyli związek o podobnej strukturze co galaktozylopoliole, odznacza się potencjalnymi właściwościami prebiotycznymi [14, 16].

W wyniku przeprowadzonych badań stwierdzono, że wartość pH środowiska ulega obniżeniu, zależnie od szczepu i źródła węgla, do poziomu 4,7-5,5 (wyjściowe pH wynosiło 5,7). Zmiany pH środowiska przedstawiono w tab. 2. Aktywność kwasząca szczepów *Lb. casei* i *Lb. rhamnosus*, w pożywkach zawierających fruktoooligosacharydy, wynosiła od 4,7 do 5,2, natomiast w obecności β -galaktozylopolioli od 5,4 do 5,5. Źródło węgla nie miało natomiast wpływu na aktywność kwasząca szczepu *Lb. acidophilus*, ponieważ pH wynosiło od 5,2 do 5,5.

Tabela 2

Aktywność kwasząca bakterii z rodzaju *Lactobacillus*.
Acidifying activity of *Lactobacillus* species.

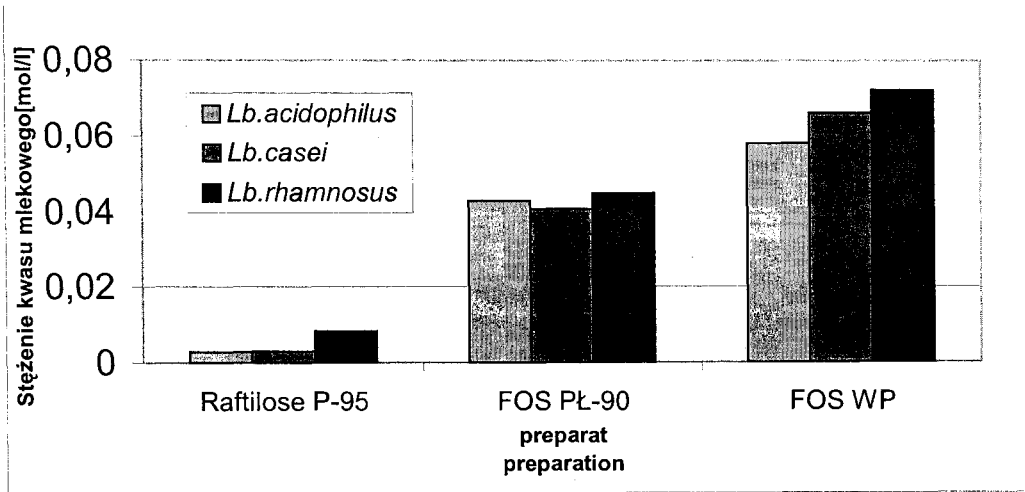
Gatunek Species	Szczep Strain	pH						
		Kestoza Kestose	Raftilose P-95	FOS Wako Pure	FOS PŁ-90	GK	GE	GL
<i>Lb. acidophilus</i>	Ros	5,2	5,2	5,2	5,4	5,4	5,4	5,5
<i>Lb. casei</i>	Shirota	5,2	5,0	4,7	5,2	5,5	5,5	5,4
<i>Lb. rhamnosus</i>	GG ATCC 53105*	5,0	5,2	4,9	5,0	5,4	5,4	5,4

Na podstawie porównania czasów retencji poszczególnych pików uzyskanych na chromatogramach HPLC, po wprowadzeniu próbek hodowli bakterii i substancji wzorcowych, dokonano identyfikacji kwasu mlekowego i octowego. Stwierdzono, że bakterie z rodzaju *Lactobacillus* metabolizują badane β -fruktoooligosacharydy z wytworzeniem zróżnicowanych ilości: kwasu mlekowego i kwasu octowego (rys. 2, 3).

W pożywce MRS znajduje się znaczna zawartość octanu sodu, w związku z tym nie można wykluczyć jego wpływu na wzrost bakterii *Lactobacillus*, zwłaszcza szczepu *Lb. acidophilus*.

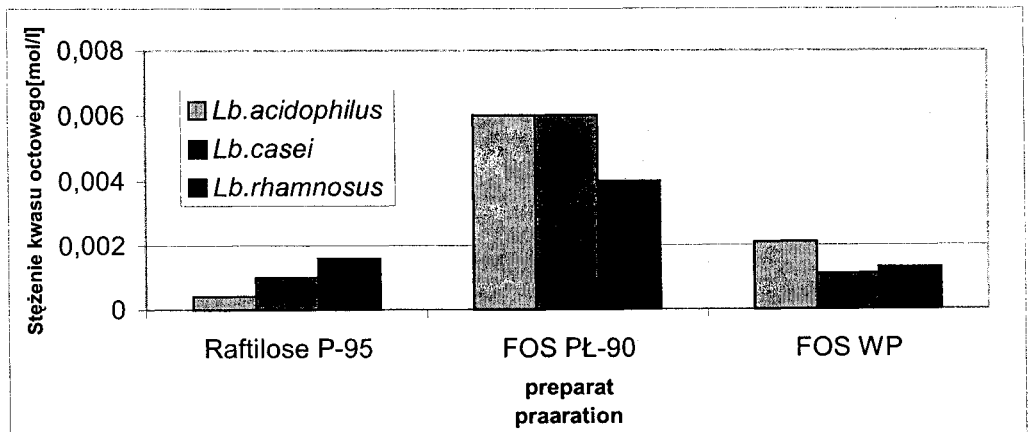
W zależności od stopnia polimeryzacji zastosowanego preparatu fruktoooligosacharydów na podłożu, stwierdzono różne stężenie kwasu mlekowego od 0,0028 do

0,072 [mol/l] wytwarzanego przez bakterie *Lactobacillus*. Względne odchylenie standardowe oznaczenia kwasu mlekowego wynosiło 10%. Stężenie kwasu mlekowego (na podłożu zawierającym β -fruktooligosacharydy) miało tendencję rosnącą w miarę obniżania stopnia polimeryzacji oligomerów odpowiednio od Raftilose P-95, FOS PŁ-90 do FOS Wako Pure.



Rys. 2. Produkcja kwasu mlekowego przez bakterie z rodzaju *Lactobacillus*.

Fig. 2. Production of lactic acid by *Lactobacillus* sp.

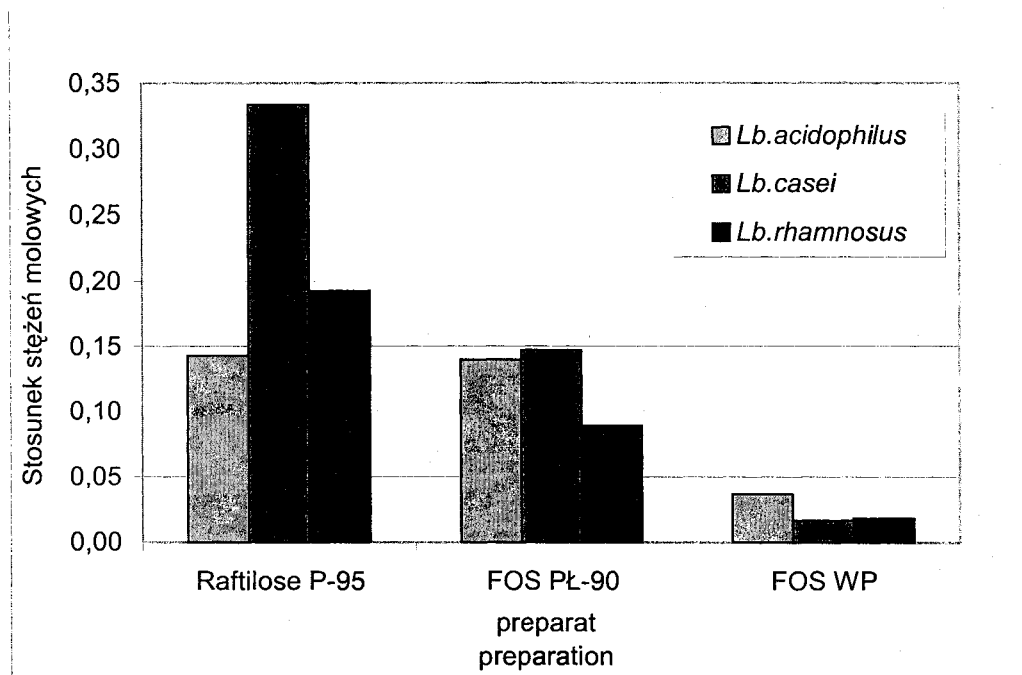


Rys. 3. Produkcja kwasu octowego przez bakterie z rodzaju *Lactobacillus*.

Fig. 3. Production of acetic acid by *Lactobacillus* sp.

Produkcja kwasu octowego przez bakterie *Lactobacillus* na badanych podłożach była względnie niska i wynosiła od 0,001 do 0,006 [mol/l]. Względne odchylenie standardowe oznaczenia kwasu octowego wynosiło 12%.

Stosunek molowych stężeń kwasu octowego do kwasu mlekowego wynosiło od 0,02 do 0,30 i miało tendencję rosnącą w miarę wzrostu stopnia polimeryzacji oligomerów od FOS WP, FOS PŁ-90 do Raftilose P-95. Stosunek stężenia kwasu octowego do kwasu mlekowego przedstawiono na rys. 4.



Rys. 4. Stosunek molowych stężeń kwasu octowego do kwasu mlekowego wytworzonych przez bakterie z rodzaju *Lactobacillus*.

Fig. 4. Molar concentration ratio of acetic acid to lactic acid produced by *Lactobacillus* species.

Wnioski

1. Bakterie z rodzaju *Lactobacillus* zdolne są do fermentowania fruktooligosacharydów i galaktozylopolioli.
2. Przyrost biomasy bakterii w obecności β -fruktooligosacharydów jest o około 50% wyższy niż w pożywkach z β -galaktozylopoliolami.
3. Najlepszym preparatem dla szczepu *Lb. acidophilus* jest Raftilose P-95, dla *Lb. casei* FOS WP, natomiast dla *Lb. rhamnosus* są to FOS WP, FOS PŁ-90 oraz kestoza.

4. Ilość kwasu mlekowego wytwarzanego przez bakterie *Lactobacillus* na podłożu z β -fruktooligosacharydami ma tendencję rosnącą w miarę obniżania stopnia polimeryzacji oligomerów (od Raftilose P-95, FOS PŁ-90 do FOS WP).
5. Produkcja kwasu octowego przez bakterie *Lactobacillus* na badanych podłożach jest względnie niska i wynosi od 0,001 do 0,006 mol/l.
6. Stosunek molowych stężeń kwasu octowego do kwasu mlekowego wynosi od 0,02 do 0,30 i ma tendencję rosnącą w miarę wzrostu stopnia polimeryzacji oligomerów (od FOS WP, FOS PŁ-90 do Raftilose P-95).
7. Czyste galaktozylopoliole są źródłem węgla dla bakterii *Lactobacillus*, ale w mniejszym stopniu wpływają na produkcję kwasów niż ma to miejsce w przypadku kestozy o podobnej czystości.

Badania wykonano w ramach projektu KBN/021/PO6/99/27.

Literatura

- [1] Ballongue J, Schumann C., Quignon P.: Effect of lactulose and lactitol on colonic microflora and enzymatic activity. Scand. J. Gastroenterol., 1997, **32 Suppl. 222**, 41-44.
- [2] Bielecka M., Biedrzycka E., Majkowska A. Selection of probiotics and prebiotics for synbiotics and confirmation of their *in vivo* effectiveness. Food Res. Int. 2002, **35**, 125-131.
- [3] Coussument P.A.A.: Inulin and oligofructose: safe intakes and legal status. Am. Soc. Nutr. Sci., 1999, 1412S-1416S.
- [4] De Leenheer L., Hoebregs H.: Progress in the elucidation of the composition of chicory inulin, 1994, (46) **5**, 193-196.
- [5] De Man, J.D., Rogosa, M.,a Sharpe, M.E.: A Medium for the cultivation of *Lactobacilli*. J. Appl. Bact., 1960, **23**, 130-135.
- [6] Gibson G.R., Roberfroid M.B.: Dietary modulation of the human colonic microbiots: introducing the concept of prebiotics. J. Nutr., 1995, **125**, 1401-1414.
- [7] Hata Y., Hara T., Oikawa T., Yamamoto M., Hirose N., Nagashima T., Torihama N., Nakajima K., Watabe A., Yamashita M.: The effects of fructooligosaccharides against hyperlipidemics. Geriatr. Med., 2002, **21**, 156-167.
- [8] Hidaka H., Eida T., Tokunaga T., Tashiro Y.: Effects of fruktooligosaccharides on intestinal flora and human health. Bifidobacteria Microflora.,1986, **5**, 37-50.
- [9] Hiele M., Ghooys Y., Rutgeerts P., Vantrappen G.: Metabolism of erythritol in humans: comparison with glucose and lactitol. Br. J. Nutr., 1993, **69**, 169-176.
- [10] Kaplan H., Hutkins R. Fermentation of fructooligosaccharides by lactic acid bacteria and bifidobacteria. Appl. Environ. Microbiol. 2000, **66**, 2682-2684.
- [11] Klewicki R.: Transglycosylation of a β -galactosyl radical, in the course of enzymic hydrolysis of lactose, in the presence of selected polyhydroxyalcohols. Biotechnol. Letters., 2000, **22**, 1063-1066.
- [12] Linden G., Lorient D.: New ingredients in food processing. Woodhead Publishig Limited, Cambridge 1999, p. 224.
- [13] O'Sullivan M.G.: Metabolism of bifidogenic factors by gut flora - an overview. Bulletin of the IDF., 1996, **313**, 23-30.

- [14] Petuely F., Harju M.: Production and properties of lactulose, lactitol, and lactobionic acid. Bull. Int. Dairy Fed., 1993, **289**, 27-30.
- [15] Rao V.A.: The prebiotic properties of oligofructose at low intake levels. Nutr. Res., 2002, **21**, 843-848.
- [16] Saarela M., Hallamaa K., Mattila-Sandholm T.: The effect of lactose derivatives lactulose, lactitol and lactobionic acid on the functional and technological properties of potentially probiotic *Lactobacillus* strains. Inter. Dairy J., 2003, **13** (4), 291-302.
- [17] Śliżewska K.: Produkty przemian fruktooligosacharydów przez jelitowe bakterie z rodzaju *Lactobacillus*. Praca doktorska wykonana w Instytucie Technologii Fermentacji i Mikrobiologii. PŁ. Łódź, 2002.
- [18] Zduńczyk Z.: Probiotyki i prebiotyki oddziaływanie lokalne i systemowe. Przem. Spoż., 2002, **4**, 8.

GROWTH AND ACIDIFYING ACTIVITY OF BACTERIAL STRAINS OF *LACTOBACILLUS* IN THE MEDIUM CONTAINING OLIGOSACCHARIDES AND OLIGOPOLYOLS OF DIFFERENT DEGREE OF POLIMERYSATION

S u m m a r y

The objective of the investigation conducted was to determine the growth and acidifying activity of *Lactobacillus* species in a medium with fructooligosaccharides and galactosylpolyols preparations. The bacteria cultures were developed using an MRS nutrient with glucose as a source of carbon. The glucose was substituted by fructooligosaccharides and galactosylpolyols in the MRS medium. An HPLC method was used to determine the content of lactic and acetic acids as produced by *Lactobacillus* species.

The experiments proved that the bacterial strains of *Lactobacillus* species grew on a medium with added preparations of fructooligosaccharides and galactosylpolyols. The biomass yield of *Lactobacillus* sp. in a medium with fructooligosaccharides varied from 0.57 g/l to 1.21 g/l, and as for the medium with galactosylpolyols: from 0.37 g/l to 0.63 g/l.

Depending on the species types and the source of carbon, the pH values ranged between 4.7 and 5.5 against the initial value of 5.7. The molar concentration ratio between the acetic and the lactic acids produced by *Lactobacillus* species ranged from 0.02 to 0.3 and had a tendency to increase along with the rise in the degree of polymerization of oligomers. The galactosylpolyols are a source of carbon for the bacterial strains of *Lactobacillus* and their acidifying activity is weaker than the same activity of preparations of fructooligosaccharides.

Key words: oligosaccharides, oligopolyols, *Lactobacillus* spp., fermentation. ☒

ANETA JAROSŁAWSKA, JAN OSZMIAŃSKI

WPLYW POLIFENOLI TARCZYCY BAJKALSKIEJ I GŁOGU DWUSZYJKOWEGO NA PROCESY UTLENIANIA WYBRANYCH SKŁADNIKÓW CIASTA KRUCHEGO W TRAKCIE JEGO WYPIEKU

Streszczenie

Celem niniejszej pracy było określenie aktywności przeciwutleniającej flawonów tarczycy bajkalskiej (*Scutellaria baicalensis* Georgi) i procyanidyn głogu (*Crataegus oxycantha*) oraz ich stopnia degradacji podczas wypieku ciasta kruchego w temp. 205-225°C przez 20 min. Porównano efekt przeciwutleniający flawonów tarczycy bajkalskiej, dodanej do składu recepturowego ciasta kruchego w postaci świeżo zmieszanych korzeni oraz preparatu handlowego.

Aktywność przeciwutleniająca preparatów polifenolowych była zróżnicowana. Flawony tarczycy bajkalskiej były aktywniejszymi przeciwutleniaczami niż procyanidyny głogu. Flawony były efektywniejszymi inhibitorami powstających nadtlenków, produktów wtórnych oraz dienów skoniugowanych. Zmierzono pozytywny efekt aktywności przeciwutleniającej flawonów korzenia tarczycy w stosunku do zawartych w cieście witamin (α -tokoferol i β -karoten), kwasów tłuszczowych (w szczególności kwasów z rodziny n-3 i n-6), cholesterolu i jego utlenionych pochodnych. Czas oraz wysoka temperatura wypieku niekorzystnie wpłynęły na stabilność polifenoli, głównie procyanidyn. Badania dowiodły, że istnieje możliwość stabilizacji ciasta kruchego flawonami świeżo zmielonych korzeni tarczycy bajkalskiej.

Słowa kluczowe: ciasto kruche, polifenole, przeciwutleniacze, tłuszcz, witaminy, cholesterol.

Wstęp

Podczas pieczenia ciast w wysokiej temperaturze, w wyniku utleniania tłuszczów oraz pozostałych składników, powstają szkodliwe dla zdrowia ludzkiego produkty utleniania lipidów (nadtlenki i hydroksynadtlenki), wtórne produkty utleniania (aldehydy i ketony) czy krótkołańcuchowe kwasy tłuszczowe. W wyniku procesu wypieku dochodzi do obniżenia wartości odżywczej również innych składników, takich jak witaminy z grupy E i A czy białka. Zmiany te wpływają na strawność i przyswajalność składników odżywczych danego produktu żywnościowego przez organizm ludzki.

Niedobór NNKT czy witamin wywołuje u człowieka wiele zaburzeń metabolicznych, prowadzi do choroby niedokrwiennej serca, sprzyja również procesom miażdżycowym [21].

Jednym z głównych składników ciast są jaja zawierające znaczne ilości cholesterolu. W świetle najnowszych badań to nie sam cholesterol jest przyczyną wielu chorób, ale jego postać utleniona.

Zahamowanie lub opóźnienie niekorzystnych przemian składników odżywczych można uzyskać poprzez stosowanie substancji przeciwutleniających. Powszechnie używane w przemyśle spożywczym syntetyczne przeciwutleniacze nie zawsze znajdują uznanie wśród konsumentów, dlatego wciąż poszukuje się naturalnych związków bezpiecznych dla zdrowia i w pełni akceptowanych przez konsumentów. Badania ostatnich lat wskazują na możliwość stosowania w charakterze przeciwutleniaczy związków izolowanych z roślin leczniczych, przypraw i ziół.

Tarczycza bajkalska (*Scutellaria baicalensis* Georgi) to niewysoka (25–60 cm), wieloletnia roślina z rodziny wargowych (*Labiatae*), występująca głównie we wschodniej Syberii, Chinach i Japonii. W Polsce jest rośliną mało znaną, mimo że dobrze znosi nasze warunki klimatyczne i daje duże plony. Z 1 ha uzyskuje się ok. 3 t korzeni, z których wg Oszmiańskiego można otrzymać 450 kg preparatu flawonoidowego [11, 18]. Korzeń konsystencji włóknistej o barwie szaro-żółtej, bez zapachu, wykazuje lekko gorzki smak. Korzeń tarczyczy bajkalskiej zawiera wiele biologicznie aktywnych substancji, spośród których najważniejsze są flawonoidy o silnych właściwościach lipofilnych, o potrójnej lub poczwórnej hydroksylacji (bądź metoksytacji) pierścienia A.

Głóg dwuszyjkowy *Crataegus oxyacantha* L., z rodziny różowatych (*Rosae*), jako roślina lecznicza znana i stosowana jest od czasów starożytnych. Do leczniczych składników głogu zaliczyć należy przede wszystkim frakcję polifenolową złożoną ze związków flawonoidowych, głównie glikozydów kwercetyny, kamferolu i apigeniny oraz rzadko spotykane w roślinach C-glikozydy flawonowe, jak witeksyna i izowiteksyna. Ponadto ważną grupę polifenoli stanowią procyjanidyny zaliczane do tanin skondensowanych, składających się z jednostek flawon-3-oli wykazujących aktywność przeciwutleniającą [1, 6, 29]. W głogu występują głównie oligomery (-)epikatechiny, dimery B2, B4, B5, trimer C1 i inne polimery, brak natomiast polimerów (+)katechiny [9, 12, 16, 22, 23, 26]. Dodatkowo istnienie zestryfikowanej kwasem galusowym procyjanidyny B2 w pozycji C3 lub C3' zwiększa te właściwości.

Celem niniejszej pracy było określenie aktywności przeciwutleniającej flawonów tarczyczy bajkalskiej (*Scutellaria baicalensis* Georgi) i procyjanidyn głogu (*Crataegus oxyacantha*) oraz ich stopnia degradacji podczas wypieku ciasta kruchego. Porównano również skuteczność działania flawonów ze świeżo zmielonych korzeni tarczyczy bajkalskiej z aktywnością flawonów preparatu handlowego.

Materiał i metody badań

Do otrzymania preparatu procyjanidyn z kory głogu (G) zastosowano metodę Oszmiańskiego [17]. Preparat flawonów tarczycy bajkalskiej (TB) zakupiono w firmie WIMEX BEIJING (Chiny). Suche korzenie tarczycy bajkalskiej, pochodzące z plantacji krajowej (z okolic Łodzi) (KTB) mielono w młynku laboratoryjnym na drobny proszek i w tej postaci były dodawane do ciasta. Dawka preparatów polifenolowych użytych do stabilizacji ciasta wynosiła 500 ppm w przeliczeniu na gramaturę próbek przeznaczonych do wypieku.

Ciasto kruche sporządzano z jaja (1 jajo całe), masła (120 g), mąki krupczatki (250 g, typu 500), oleju słonecznikowego (15 g) oraz cukru (70 g). Wszystkie składniki miksowano przez 40 s. W trakcie mieszania dodawano preparaty związków polifenolowych. Rozwałkowane krążki ciasta (250 g) o grubości 2 cm i średnicy 15 cm wypiekano przez 20 min w piecu typu Brabender w temp. 205–225°C. Po wypieku krążki ciasta studzono i wykrawano części środkowe, które przeznaczano do analiz.

W wypieczonym cieście z dodatkiem preparatów polifenoli oznaczano zawartość α -tokoferolu i β -karotenu [8], cholesterolu jak i jego pochodnych [2] oraz skład kwasów tłuszczowych metodą chromatografii gazowej [19]. W celu oznaczenia zawartości polifenoli (procyjanidyn i flawonów) próbkę (2 g) rozpuszczano w 5 cm³ alkoholu metylowego. Po odwirowaniu próbki (10 min 12000 obr.), w uzyskanym wyciągu oznaczano polifenole metodą chromatografii cieczowej. Uzyskane wyniki podano w mg/100 g produktu.

W tłuszczu wyekstrahowanym z upieczonego ciasta oznaczano powstałe nadtlenki [7], wtórne produkty utleniania metodą TBARS [14] oraz zawartość dienów skoniugowanych metodami spektrofotometrycznymi [27].

Wyniki opracowano statystycznie przy użyciu programu komputerowego Statgraphic Plus v 5.1. Ocenę istotności różnic pomiędzy średnimi ($n = 2$) wykonano testem Duncana przy $p = 0,05$.

Wyniki i dyskusja

W tab. 1. zamieszczono wyniki zawartości powstałych nadtlenków, produktów wtórnych oraz dienów skoniugowanych w tłuszczu wyizolowanym z upieczonego ciasta kruchego, w stosunku do próbki przed wypiekiem.

W cieście po wypieku stwierdzono znaczny przyrost zawartości aldehydu dimalonowego (MDA), dienów skoniugowanych oraz nadtlenków w stosunku do ciasta surowego. Dodatek flawonów tarczycy bajkalskiej, zastosowany w obu testowanych formach (KTB, TB), statystycznie istotnie wpłynął na zawartość wtórnych produktów oksydacji tłuszczu ciasta oraz na ilość powstałych dienów skoniugowanych, stanowiąc grupę jednorodną w analizie wariancji z próbką przed wypiekiem. W przypadku ciasta

wypieczonego z dodatkiem flawonów tarczycy bajkalskiej stwierdzono trzykrotnie mniej MDA i 1,6 razy mniej dienów skoniugowanych niż w próbce kontrolnej bez dodatku flawonów po wypieku. Otrzymano 1,5-krotnie mniej nadtlenków w stosunku do analogicznej próbki kontrolnej. Preparat z głogu był mniej skuteczny w ochronie ciasta poddanego wypiekowi niż flawony z tarczycy bajkalskiej. Oznaczono podobne zawartości aldehydu dimalonowego, nadtlenków i dienów skoniugowanych zarówno w próbce kontrolnej po wypieku, jak i z dodatkiem procyanidyn kory głogu.

Tabela 1

Wyniki autooksydacji tłuszczu wyizolowanego z wypieczonego ciasta kruchego, stabilizowanego flawonami z korzenia tarczycy bajkalskiej (KTB), preparatem handlowym tarczycy bajkalskiej (TB) oraz preparatem procyanidyn głogu (G).

Autooxidation results of fat isolated from a shortcake stabilized using: a) 500 ppm flavon obtained from a dry root of skullcap (KTB), b) a commercial preparation of skullcap (TB), and c) procyanidins of hawthorn (G).

Rodzaj próby / Sample Type				
Kontrolna przed wypiekiem / Control sample before its baking	Kontrolna po wypieku / Control sample after the baking	Korzeń tarczycy bajkalskiej / Dry root of skullcap (KTB)	Preparat tarczycy bajkalskiej / Skullcap (TB)	Preparat głogu Hawthorn (G)
Metoda TBARS / TBARS method [nM MDA/g]				
0,94±0,003 ^A	7,28±0,016 ^D	2,37±0,002 ^B	2,19±0,038 ^B	6,30±0,001 ^{CD}
Metoda tiocyjanianowa / thiocyanian method				
0,130±0,010 ^A	0,448±0,022 ^B	0,166±0,006 ^A	0,138±0,013 ^A	0,332±0,003 ^B
Dieny skoniugowane / conjugated dienes [nmol/g]				
20,62±0,018 ^A	40,74±0,008 ^B	25,74±0,001 ^A	25,74±0,028 ^A	42,59±0,002 ^B

A, B, C, D – wartości średnie oznaczone tymi samymi literami w kolumnach nie różnią się statystycznie istotnie na poziomie $p = 0,05$

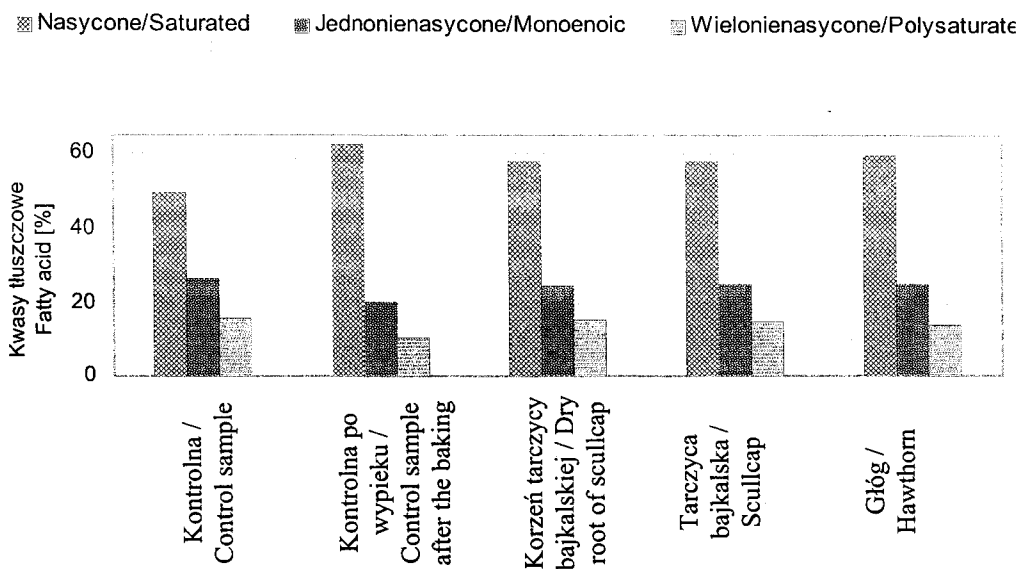
A, B, C, D – the averages denoted by the same letters and standing in the columns are not significantly different at a level of $p = 0.05$

Drzewicka i wsp. [5] podają, że zawartość dienów skoniugowanych i nadtlenków uzależniona jest od rodzaju tłuszczu użytego do produkcji ciast. Autorzy Ci twierdzą, że używanie świeżych tłuszczów do wypieku ciast nie stanowi zagrożenia dla zdrowia ludzkiego pod względem powstających pierwszorzędowych i wtórnych produktów utleniania.

Komponentami, z których wykonano ciasto były między innymi jaja, masło oraz olej słonecznikowy. W związku z tym, że są to surowce podatne na utlenianie, ocenio-

no wpływ warunków wypieku na zmiany kwasów tłuszczowych oraz zawartość cholesterolu i jego produktów utleniania.

Zmiany zawartości kwasów tłuszczowych, jakie zaszły w cieście kruchym podanym wypiekowi, przedstawiono na rys. 1.



Rys. 1. Zmiany w składzie frakcji tłuszczowej wyekstrahowanej z ciasta kruchego przed i po wypieku, z dodatkiem naturalnych przeciwutleniaczy.

Fig. 1. Changes in the content of fatty acids extracted from a shortcake with natural antioxidants added, before and after its baking.

W wypieczonym cieście nastąpił wzrost udziału kwasów tłuszczowych z grupy nasyconych, niezależnie od tego czy były to próbki stabilizowane polifenolami czy też nie. Największy wzrost stwierdzono w próbce niestabilizowanej. Degradacji uległy kwasy tłuszczowe z grupy nienasyconych. Największe zmiany zaszły w przypadku kwasów tłuszczowych z grupy wielonienasyconych, w próbkach ciasta poddanych wypiekowi bez stabilizatorów. Istotny wpływ na zachowalność kwasów tłuszczowych z tej grupy miał dodatek polifenoli jako stabilizatora przemian oksydacyjnych tłuszczu oraz innych składników ciasta. Zachowalność wielonienasyconych kwasów tłuszczowych w próbkach z dodatkiem polifenoli w przypadku KTB wynosiła – 98%, w przypadku TB – 96% a w przypadku G – 88%. W próbce niestabilizowanej zachowalność tych kwasów wynosiła 86% i niewiele różniła się od próbki z dodatkiem preparatu pozyskanego z kory głogu. Regulska-Ilow i wsp. [20] podają, że nienasycone kwasy tłuszczowe występujące w produktach są łatwo utleniane zwłaszcza w czasie pieczenia, co również znalazło odzwierciedlenie w niniejszej pracy. Z utlenieniem tłuszczów

wiąże się nie tylko powstawanie szkodliwych produktów, ale również zmniejszenie ich wartości odżywczej. Drzewicka i wsp. [5] zbadali różne tłuszcze wykorzystywane do pieczenia ciast krucho-drożdżowych. Stwierdzili w cieście po wypieku nadmierną ilość dienów skoniugowanych oraz nadtlenków. Znaczących zmian w składzie kwasów tłuszczowych ww. autorzy nie wykazali, lecz zaobserwowali znaczną degradację kwasów wielonienasyconych. W innej pracy Drzewicka i wsp. [4] zastosowali flawony tarczycy bajkalskiej oraz witaminę E jako stabilizatory przemian oksydacyjnych różnych tłuszczów roślinnych wykorzystanych do sporządzenia ciastek kruchych pieczonych przez 30 min w 200°C. Autorzy wykazali, że ekstrakt z tarczycy bajkalskiej efektywnie chronił przed utlenianiem tłuszcz margaryny oraz olej sojowy o największym udziale kwasów nasyconych. Zwrócili również uwagę, że proszek do pieczenia podwyższający pH ciasta powoduje przyspieszenie reakcji wolnorodnikowego utleniania składników.

Su i wsp. [25] oraz Chen i wsp. [3] w przeprowadzonych badaniach, polegających na długotrwałym ogrzewaniu oleju rzepakowego (90°C przez 40 godz.), dowiedli wysokiej aktywności stabilizacyjnej flawonów z tarczycy bajkalskiej. Stwierdzili oni, że w tych warunkach flawony nie tylko działały ochronnie na nienasycone kwasy tłuszczowe oleju, ale były efektywniejszymi przeciwutleniaczami niż BHT.

W przedstawionych badaniach wyraźne różnice w zawartości cholesterolu w próbkach przed i po wypieku zaznaczyły się tylko w próbce niestabilizowanej (tab. 2). W próbkach niestabilizowanych zawartość cholesterolu była o połowę niższa od zawartości w próbce przeznaczonej do wypieku. Natomiast w próbkach stabilizowanych różnice pomiędzy zawartością cholesterolu przed i po wypieku były niewielkie, średnio mniej o 1–4 mg/100 g ciasta. Zastosowane warunki wypieku ciasta przyczyniły się do powstania nowych produktów utlenionego cholesterolu. Spośród wielu pochodnych utlenionego cholesterolu zidentyfikowano i oznaczono: cholesta 4,6-dien-3-one i cholestane-3 β ,5 α -5 β -triol. Zawartość oznaczonego cholesta 4,6-dienu w próbce kontrolnej wynosiła 12,42 mg/100 g ciasta.

Natomiast po wypieku we wszystkich próbkach ciasta nastąpił znaczny przyrost zawartości tej pochodnej. W próbce kontrolnej po wypieku było 2,3 razy więcej, w próbkach z flawonami TB 1,5 razy, a w próbkach z flawonami KTB i procyanidynami G 1,7 razy więcej tego związku niż w cieście surowym. W przypadku zidentyfikowanej drugiej pochodnej, jaką był triol, również zaobserwowano podobną tendencję wzrostową (tab. 2).

Lercker i wsp. [13] podają, że podczas pieczenia ciasta w znacznej mierze tworzą się oksysterole ze względu na zawartość w nim jaj i tłuszczu. Jednak ich ilość (w produktach spożywczych zidentyfikowano do tej pory blisko 70 związków o charakterze pochodnych utlenionego cholesterolu [28]) jest trudna do oszacowania z uwagi na różnorodne warunki procesu pieczenia (temperatura i czas). Ohshima i wsp. [15] oraz

Shozen i wsp. [24] grilowali w temp. 220°C przez 6 min rybę o dużej zawartości nienasyconych kwasów tłuszczowych. Wykazali oni ponad 5-krotny wzrost utlenionych form cholesterolu, w tym produktów toksycznych tj.: triolu czy β -epoksydów. Jednocześnie podali, że zastosowanie dodatku tokoferoli do ryby znacznie zahamowało oksydację cholesterolu i kwasów tłuszczowych.

Tabela 2

Zawartość cholesterolu i jego pochodnych w cieście kruchym przed i po wypieku.
The content of cholesterol and its oxidation products in a shortcake before and after its baking.

Rodzaj związku Sample type	Próba Sample	Zawartość cholesterolu i jego pochodnych Content of cholesterol and its derivatives [mg/100g produktu/product]			
		Kontrolna Control Content	Korzeń tarczycy bajkalskiej Dry root of skullcap (KTB)	Preparat tarczycy bajkalskiej Skullcap (TB)	Preparat głogu Hawthorn (G)
Cholesterol (5-cholesten- 3 β -ol)	Ciasto przed wypiekiem Cake before the baking	24,88	24,88	24,88	24,88
	Ciasto po wypieku Cake after the baking	14,38	23,71	20,43	21,17
Cholesta 4,6- dien-3-one	Ciasto przed wypiekiem Cake before the baking	12,42	12,42	12,42	12,42
	Ciasto po wypieku Cake after the baking	28,27	21,37	18,12	21,07
Cholestane- 3 β ,5 α -5 β -triol	Ciasto przed wypiekiem Cake before the baking	93,83	93,83	93,83	93,83
	Ciasto po wypieku Cake after the baking	126,95	116,61	107,17	120,14

Zastosowane w pracy warunki wypieku ciasta (20 min w temp. 205–225°C) wpłynęły niekorzystnie na ilość oznaczonych witamin.

Początkowa zawartość α -tokoferolu w cieście surowym wynosiła 13,4 mg, β -karotenu 0,07 mg, a karotenów ogółem 0,25 mg/100 g produktu (tab. 3). W sporządzonym cieście zawartość witaminy A była śladowa, a zastosowana temperatura wypieku całkowicie pozbawiła ciasto kruche tego składnika. Po wypieku ciasta w próbce niestabilizowanej było 7 razy mniej α -tokoferolu i β -karotenu niż w próbce przed wypiekiem. Pomimo wysokiej temperatury zarówno flawony, jak i procyjanidyny wpły-

nęły korzystnie, stabilizując witaminy znajdujące się w cieście kruchym. W próbkach z dodatkiem zmielonych korzeni tarczycy bajkalskiej zostało zachowanych 5,48 mg α -tokoferolu i 0,07 mg β -karotenu w 100 g produktu. Podobne wartości uzyskano w cieście stabilizowanym preparatem handlowym tarczycy bajkalskiej. Natomiast preparat z głogu również i w tym przypadku był słabszym stabilizatorem tych witamin, zwłaszcza α -tokoferolu (1,04 mg/100 g produktu).

Tabela 3

Zawartość witamin w cieście kruchym przed i po wypieku.
The content of vitamins in a shortcake before and after its baking

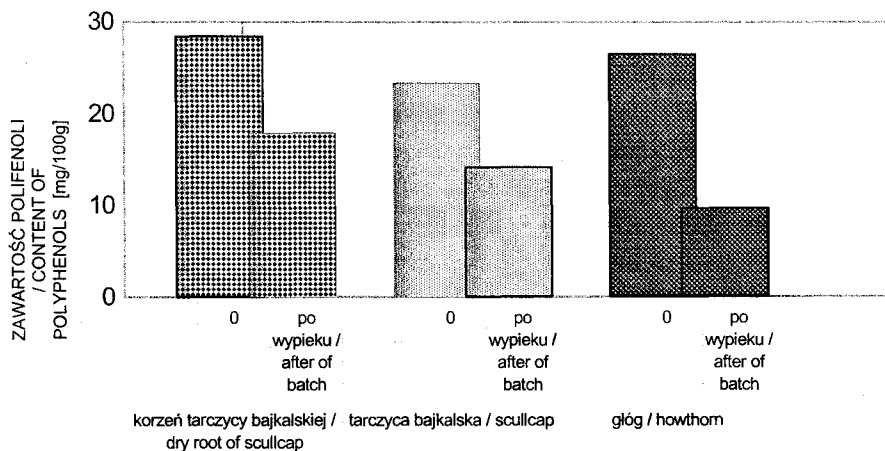
Rodzaj związku Compound type	Próba Sample	Zawartość witamin / Content of vitamins [mg/100 g produktu/product]			
		Kontrolna Control	Korzeń tarczycy bajkalskiej Dry root of skullcap (KTB)	Preparat tarczycy bajkalskiej Skullcap (TB)	Preparat głogu Hawthorn (G)
α -tokoferol α -tocopherol	Ciasto przed wypiekiem Cake before the baking	13,40	13,40	13,40	13,40
	Ciasto po wypieku Cake after the baking	1,78	5,48	5,62	1,04
β -karoten β -caroten	Ciasto przed wypiekiem Cake before the baking	0,07	0,07	0,07	0,07
	Ciasto po wypieku Cake after the baking	0,05	0,07	0,07	0,06
Karoteny ogółem Total carotenoids	Ciasto przed wypiekiem Cake before the baking	0,25	0,25	0,25	0,25
	Ciasto po wypieku Cake after the baking	0,19	0,3	0,21	0,20

Na rys. 2. przedstawiono zmiany zawartości polifenoli użytych do stabilizacji ciasta kruchego podczas wypieku.

Pomimo krótkiego czasu wypieku wysoka temperatura niekorzystnie wpłynęła na stabilność polifenoli. Zawartość flawonów ze zmielonego korzenia tarczycy bajkalskiej po 20 min uległa zmniejszeniu o 37% w stosunku do ilości początkowej, flawonów preparatu handlowego o 27% natomiast procyjanidyn o 63%. Na podstawie ubytków, jakie zaszły w ciągu tych 20 min wypieku obliczono po jakim czasie doszłoby do całkowitej degradacji polifenoli. Czas całkowitej degradacji polifenoli podczas wypie-

ku ciasta w przypadku preparatu flawonów korzeni tarczycy bajkalskiej (KTB) wyniósłby 54 min, flawonów z preparatu handlowego (TB) – 72 min, a procyjanidyn głógu (G) 32 min.

Większa trwałość flawonów jako przeciwutleniaczy (w stosunku do kwasów tłuszczowych, witamin, cholesterolu) umożliwia ich zastosowanie do stabilizacji produktów poddawanych pieczeniu, jakimi są ciasta. Dzienna zalecana dawka spożycia flawonów korzenia tarczycy bajkalskiej, jak podają Lai i wsp. [10] może wynosić 630,0 mg, jeśli są to flawony podawane w formie zmielonego korzenia (KTB), natomiast 313,5 mg preparatu handlowego (TB). Wg innych danych [11], spożycie tych związków może nawet wynosić od 3,0 do 9,0 g flawonów zmielonego korzenia, a preparatu od 0,4–9,0 g w formie wodnych naparów. Tak szeroki, potwierdzony badaniami farmakologicznymi, zakres dawek spożycia flawonów świadczy o tym, że są one bezpieczne dla zdrowia ludzkiego i mogą być stosowane jako dodatek do żywności.



Rys. 2. Zawartość polifenoli w cieście kruchym przed i po wypieku.

Fig. 2. The content of polyphenols in a shortcake before and after its baking.

Wnioski

1. Zastosowane polifenole aktywnie chroniły składniki ciasta kruchego - w szczególności witaminy i nienasycone kwasy tłuszczowe, w tym należące do NNKT - podczas wypieku w temp. 205–225°C.
2. Procyjanidyny wyizolowane z kory głógu były słabszymi przeciwutleniaczami podczas wypieku niż flawony tarczycy bajkalskiej.
3. Proszek ze zmielonych suchych korzeni tarczycy bajkalskiej (*Scutellaria baicalensis* Georgi) (KTB) może być, obok preparatów handlowych, alternatywnym źródłem flawonów jako przeciwutleniaczy, bez dodatkowych procesów oczyszczania.

Literatura

- [1] Chen Y., Zhu Q.Y., Wong Y.F., Zhang Z., Chung H.Y.: Stabilizing effect of ascorbic acid on green tea catechins. *J. Agric. Food Chem.*, 1998, **46**, 2512-2516.
- [2] Chen Y.C., Chiu C.P., Chen B.H.: Determination of cholesterol oxides in heated lard by liquid chromatography. *Food Chem.*, 1994, **50**, 53-58.
- [3] Chen Z-Y., Su Y-L., Bi Y-R., Tsang S.Y., Huang Y.: Effect of baicalein and acetone extract of *Scutellaria baicalensis* on canola oil oxidation. *JAOCS*, 2000, **77** (1), 73-78.
- [4] Drzewicka M., Biernat J., Oszmiański J.: Wpływ ekstraktu z korzenia tarczycy bajkalskiej na procesy oksydacyjne zachodzące w wybranych tłuszczach podczas pieczenia ciast. *Bromat. Chem. Toksykol.*, praca w druku.
- [5] Drzewicka M., Szymczak J.: Ocena oksydacji i składu kwasów tłuszczowych w tłuszczach surowych i wypiekanych ciast krucho-drożdżowych. *Bromat. Chem. Toksykol.*, 2000, **13**, 193-198.
- [6] Hammerstone J.F., Lazarus S.A., Schmitz H.H.: Procyjanidin content and variation in some commonly consumed foods. *J. Nutr.*, 2000, **130**, 2086S-2092S.
- [7] Haraguchi H., Hasimoto K., Yagi A.: Antioxidative substances in leaves of *Polygonum hydropiper*. *J. Agric. Food Chem.*, 1992, **40**, 1349-1351.
- [8] Katsanidis E., Addis P.B.: Novel HPLC analysis of tocopherols, tocotrienols, and cholesterol in tissue. *Free Radic. Biol. Med.*, 1999, **27**, 1137-1140.
- [9] Kim S.H., Kang K.W., Kim K.W., Kim N.D.: Procyanidins in crataegus extract evoke endothelium-dependent vasorelaxation in rat aorta. *Life Sciences*, 2000, **67**, 121-131.
- [10] Lai M., Hou Y., Hsiu S., Chen C., Chao P.L.: Relative flavone bioavailability of scutellariae radix between traditional decoction and commercial powder preparation in humans. *J. Food Sci.*, 2002, **10**, 75-80.
- [11] Lamer-Zarawska E.: <http://www.bpf.com.pl/opraco.htm>. Opracowanie literaturowe chińskiej rośliny leczniczej – tarczycy bajkalskiej (*Scutellaria baicalensis* Georgi) wprowadzonej do uprawy na teren Polski. 1-10.
- [12] Lamer-Zarawska E., Oszmiański J.: Zioła a zdrowie. *Wiad. Ziel.*, 1995, **5**, 12.
- [13] Lercker G., Rodriguez-Estrada M.T.: Cholesterol oxidation: Presence of 7-ketocholesterol in different food products. *J. Food Comp. Anal.*, 2000, **13**, 625-631.
- [14] Mei L., McClements J., Wu J., Decker E.A.: Iron-catalyzed lipid oxidation in emulsion as affected by surfactant, pH and NaCl. *Food Chem*, 1998, **61** (3), 307-312.
- [15] Ohshima T., Shozen K., Ushio H., Koizumi C.: Effects of grilling on formation of cholesterol oxides in seafood products rich in polyunsaturated fatty acids. *Lebensm.-Wiss. Technol.*, 1996, **29**, 94-99.
- [16] Oszmiański J., Bourzeix M.: Preparation of catechin and procyanidin standards from hawthorn (*Crataegus Azarolus* L.) and pine (*Pinus mesogeensis fischi*) barks. *Pol. J Food Nutr. Sci.*, 1995, **4/45**, 89-96.
- [17] Oszmiański J.: Sposób otrzymywania aktywnych biologicznie oligomerów proantocyjanidyn z surowców roślinnych. Patent PL 169082 BI. 1996.
- [18] Oszmiański J.: Dlaczego aronia i tarczycza bajkalska są aktywne biologicznie? *Farmacja Polska*, 2001, **57**, 726-745.
- [19] PN-EN ISO 5508: Analiza estrów metylowych kwasów tłuszczowych metodą chromatografii gazowej.
- [20] Regulska-Iłow B., Iłow R.: Zmiany zachodzące w wybranych tłuszczach podczas pieczenia ciast drożdżowych metodą konwencjonalną i mikrofalową. *Bromat. Chem. Toksykol.*, 2000, **XXXIII**, 119-124.
- [21] Regulska-Iłow, Iłow R., Biernat J.: Zmiany zachodzące w tłuszczach podczas pieczenia ciast kruchych metodą konwencjonalną i mikrifalową. *Bromat. Chem. Toksykol.* 2001, **XXXIV**, 99-104.

- [22] Rehwald A., Meier B., Sticher O.: Qualitative and quantitative reversed-phase high-performance liquid chromatography of flavonoids in *Crataegus* leaves and flowers. *J. Chromat. A*, 1994, **677**, 25-33.
- [23] Rohr G.E., Meier B., Sticher O.: Quantitative reversed-phase high-performance liquid chromatography of procyanidins in *Crataegus* leaves and flowers. *J. Chromatogr. A*, 1999, **835**, 59-65.
- [24] Shozen K., Ohshima T., Ushio H., Takiguchi A., Koizumi C.: Effects of antioxidants and packing on cholesterol oxidation in processed anchovy during storage. *Lebensm.-Wiss. u.-Technol.*, 1997, **30**, 2-8.
- [25] Su Y-L., Leung L.K., Bi Y-R., Huang Y., Chen Z-Y.: Antioxidant activity of flavonoids isolated from *Scutellaria rehdiana*. *JAOCs*, 2000, **77**, **8**, 807-812.
- [26] Svedström U., Vuorela H., Kostianen R., Huovinen K., Laakso I., Hiltunen R.: High-performance liquid chromatographic determination of oligomeric procyanidins from dimers up to the hexamer in hawthorn. *J. Chromatogr. A*, 2002, **968**, 53-60.
- [27] Svinivason S., Xiong Y.L., Decker E.A.: Inhibition of protein and lipid oxidation in beef heart Surimi-like material by antioxidation and combinations of pH, NaCl, and buffer type in the washing media. *J. Agric. Food Chem.*, 1996, **44**, 119-125.
- [28] Tai C-Y., Chen Y.C., Chen B.H.: Analysis, formation and inhibition of cholesterol oxidation products in foods: an overview (part II). *J. Food Drug Analysis*, 2000, **8** (1), 1-15.
- [29] Yamakoshi J., Saito M., Kataoka S., Tokutake S.: Procyanidin-rich extract from grape seeds prevents cataract formation in hereditary cataractous rats. *J. Agric. Food Chem.*, 2002, **50**, 4983-4988.

THE EFFECT OF POLYPHENOLS EXTRACTED FROM SKULLCAP AND HAWTHORN ON THE OXIDATION OF SOME SELECTED COMPOUNDS OF A SHORTCAKE DURING ITS BAKING

Summary

The objective of the study was to determine the antioxidant activity of flavones contained in skullcap (*Scutellaria baicalensis* Georgi) and procyanidines obtained from the bark of hawthorn (*Crataegus oxy-cantha*), as well as the extent of their degradation during the 20 minute baking of a shortcake at a temperature of 205° to 225°C. It was also examined whether or not the addition of fresh, dry roots of skullcap had a similar antioxidant effect as the impact of commercial flavones.

The antioxidant activity of polyphenols was different. The flavones contained in the skullcap appeared to be more active antioxidants if compared with the procyanidins of hawthorn, whereas the flavones more actively inhibited the formation of peroxides, secondary products of oxidation (TBARS), and conjugated dienes. The positive effect of the antioxidant activity of the skullcap flavones was measured with regard to the vitamins (α -tocopherol and β -carotene) contained in the shortcake, to fatty acids (in particular to acids belonging to the n3 and n6 groups of acids), cholesterol, and its oxidized derivatives.

Two factors: baking time and high temperature during the baking of a shortcake had a negative effect of the stability of polyphenols, mainly on procyanidins isolated from hawthorn. Our investigations prove that it is possible to use freshly ground, dry skullcap roots to stabilize shortcakes against oxidation processes.

Key words: shortcake, polyphenols, antioxidant, fat, vitamins, cholesterol. ☒

KATARZYNA JUREK, AGNIESZKA PETRÓW

WPLYW SUBSTYTUCJI SŁODU PRZETWORAMI KUKURYDZIANYMI NA ZAWARTOŚĆ AZOTU α -AMINOWEGO W BRZECZKACH LABORATORYJNYCH

Streszczenie

W pracy podjęto próbę określenia wpływu częściowej substytucji słodu przetworami kukurydzianymi oraz sposobu ich kleikowania na zawartość produktów hydrolizy białek w brzeczkach laboratoryjnych.

Materiałem doświadczalnym był słód jęczmienny typu pilzneńskiego oraz przetwory kukurydziane o różnym stopniu rozdrobnienia: grys o granulacji 500–1250 μm , kaszki o granulacji 250–500 μm i 250–750 μm . Surowiec niesłodowany w dawkach 10, 20, 30 i 40% poddano kleikowaniu, łącząc go z wodą w stosunku 1:5 i utrzymując temp. 90°C przez 10 min. Zastosowano trzy warianty kleikowania: bez dodatku enzymów, z 5 i 10% dodatkiem słodu. Po wstępnej obróbce surowca niesłodowanego przeprowadzono zacieranie kongresowe, a następnie w uzyskanych brzeczkach laboratoryjnych oznaczono azot α -aminowy metodą ninhydrynową i zawartość azotu ogółem metodą Kjeldahla. Obliczono też liczbę Kolbacha. Próba stanowiąca obiekt porównawczy była brzeczka wytworzona bez dodatków niesłodowanych.

Stwierdzono, że w miarę zwiększającego się procentowego udziału kukurydzy, niezależnie od stopnia rozdrobnienia oraz sposobu kleikowania, zawartość wolnych aminokwasów oraz azotu ogółem w otrzymanych brzeczkach wykazywała tendencję malejącą. Przy przekroczeniu dawki 20% surowca niesłodowanego zaobserwowano zmniejszenie zawartości azotu α -aminowego poniżej niezbędnej dla prawidłowego rozwoju drożdży wartości 140–150 mg/l.

Słowa kluczowe: słód, azot α -aminowy, kaszka kukurydziana, grys kukurydziany.

Wprowadzenie

Największy wpływ na jakość i stabilność sensoryczną produktu finalnego zawsze będzie miała jakość zastosowanych surowców. Przy produkcji piwa obok tradycyjnych surowców, takich jak: słód, chmiel, drożdże, woda często praktykowany jest dodatek surowców niesłodowanych. Ze względu na ich nieprzetworzoną postać są one atrak-

cyjnym ekonomicznie substytutem droższego siodu. Jako dodatki niesiodowane do zacieru stosuje się zwykle ziarno powszechnie produkowane w danym kraju. W grupie zbozowych surowcow niesiodowanych przetwory kukurydziane stanowiä najwazniejszy substytut w skali swiatowej [10]. Stosowane sã przewaznie w Stanach Zjednoczonych oraz w Europie, poniewaz w tych rejonach kukurydza jest powszechnie dostepna i jest to surowiec stosunkowo tani. Do produkcji piwa wykorzystuje się szklistã frakcjã ziarna kukurydzy ze wzgledu na wysokã koncentracjã skrobi i zawartość tuszczów ponizej 1% w s.m. Wymagana granulacja kaszki w poszczegolnych krajach różni się, ale najczesciej jest to zakres 250–1350 μm . W wyniku przemiatu ziarna kukurydzy pozbawionej zarodków uzyskuje się frakcje grysü o wielkošci czãstek 500–1200 μm (stanowi to ok. 40% wyciãgu z mlyna kukurydzianego). Poniewaz enzymy oddziaujã jedynie powierzchniowo, dlatego korzystne sã drobniejsze frakcje, jednak zbyt drobne powodujã utrudnienie filtracji [7]. Zastosowanie do produkcji piwa duzych dodatków kukurydzy (20–50%) wprowadza do brzezki niewielkie ilošci zwiãzków azotowych i jednoczešnie rozcieŃcza niejako pozostałe skłãdniki siodu [1, 6]. W rezultacie otrzymuje się piwa lzejšie, bardziej stabilne, o dlužszym okresie trwaošci niź piwa produkowane z brzezek siodowych [9].

Niskoczãsteczkowe produkty rozpadu białek, takie jak: aminokwasy, dwu- i trójpeptydy sã niezbęдне do prawidłowego rozwoju drozdzy i stanowiä dla nich najwazniejsze źródló azotu. Przetwory kukurydziane, podobnie jak i pozostałe surowce niesiodowane, nie wnoszã jednak do brzezki tych zwiãzków [4]. Dlatego technologia otrzymywania piwa w tankach cylindryczno-stożkowych jasno okrešla progowe zawartošci azotu α -aminowego, traktujãc je jako wazny wyróźnik opisujãcy przydatnošć technologicznã brzezki.

Celem badañ byłó okrešlenie wpływu częšciowej substytucji siodu przetworami kukurydzianymi oraz sposobu ich kleikowania na zawartošć azotu ogółem, azotu α -aminowego w brzezkach laboratoryjnych oraz na wartošć liczby Kolbacha.

Material i metody badañ

Material došwiadczalny stanowiły:

- przetwory kukurydziane o różnym stopniu rozdrobnienia: grys o granulacji 500–1250 μm i kaszki o granulacji 250–500 μm i 250–750 μm ;
- słod jęczmienny typu pilzneńskiego;
- brzezki laboratoryjne wyprodukowane z: 10, 20, 30 i 40% udziałem przetworów kukurydzianych wstępnie skleikowanych bez dodatku oraz z 5 i 10% dodatkiem siodu.

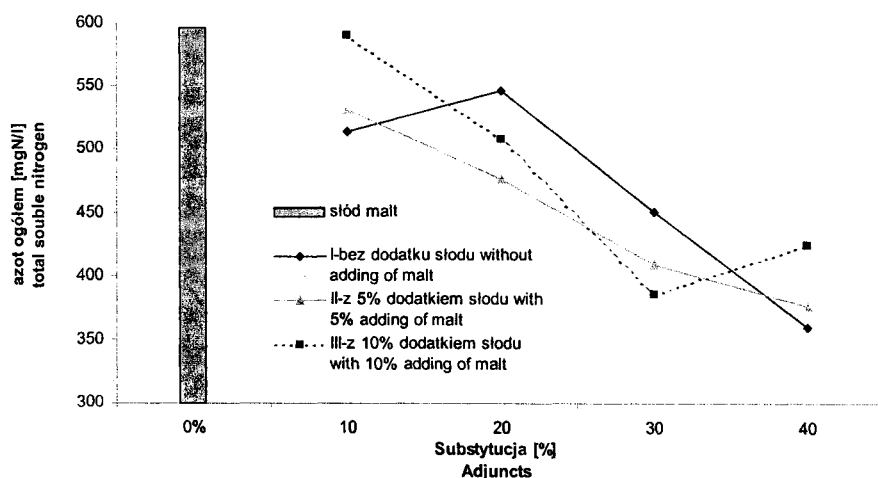
Surowiec niesiodowany w ilošci: 10, 20, 30 i 40% poddawano wstępnemu przygotowaniu w celu przeprowadzenia skrobi kukurydzianej w formę podatnã na działanie enzymów siodu. Przetwory kukurydziane kleikowano łączãc je z wodã w stosunku

1:5 i utrzymując temp. 90°C przez 10 min. Kleikowanie prowadzono w trzech wariantach. Stosowano kleikowanie przetworów kukurydzianych bez dodatku, a także z 5 i 10% udziałem słodu, traktowanego jako naturalny preparat enzymatyczny ułatwiający rozplawianie kleikowanej masy. W ten sposób upłynnioną masę łączono ze słodem w temp. 45°C i zacierano metodą kongresową [2]. Każda z brzeczek laboratoryjnych (w sumie 37 rodzajów brzeczek) powstała w wyniku połączenia wyciągów uzyskanych z trzech kubków zacieranych. Oznaczenia wykonano w trzech powtórzeniach, a wyniki zaprezentowano w formie wartości średnich.

W pracy oznaczano zawartość białka w słodzie i przetworach kukurydzianych oraz zawartość azotu ogółem w brzeczkach metodą Kjeldahla. W brzeczkach oznaczano ponadto zawartość azotu α -aminowego metodą ninhydrynową [2]. Obliczano także liczbę Kolbacha [2].

Wyniki i dyskusja

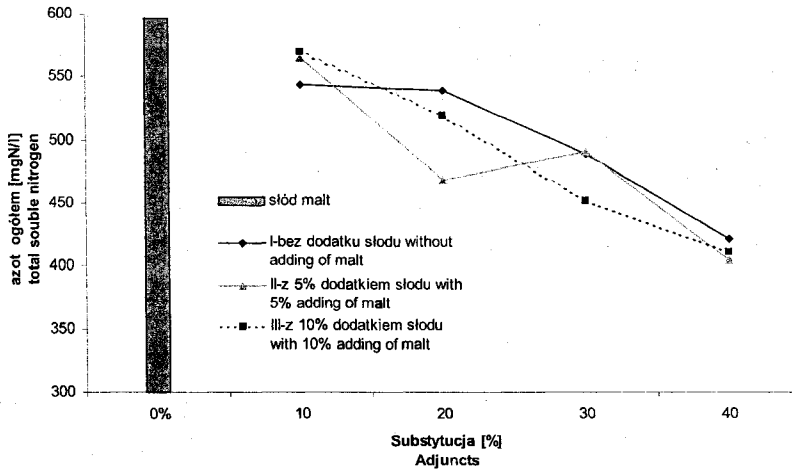
Białka stanowią od 35–60% suchej masy drożdży. Do wzrostu i budowy nowych komórek mikroorganizmy te wymagają źródeł azotu, którymi w brzeczkach słodowych są wolne aminokwasy. Przy otrzymywaniu brzeczki z użyciem tylko słodu uzyskuje się produkt o wystarczającej zawartości aminokwasów. Brzeczka wyprodukowana ze słodu bez udziału surowca niesłodowanego, będąca obiektem porównawczym, nie była dobrym źródłem azotu całkowitego (rys. 1–3). Zawartość tego składnika wynosiła 596 mg N/l brzeczki i nie mieściła się w granicach normy, wg której wymaganą minimalną ilością jest 650 mg N/l [8]. Niedobór składników azotowych w brzeczkach jest



Rys. 1. Wpływ substytucji słodu kaszką kukurydzianą o granulacji 250–750 μm oraz sposobu jej kleikowania na zawartość azotu ogółem w brzeczkach.

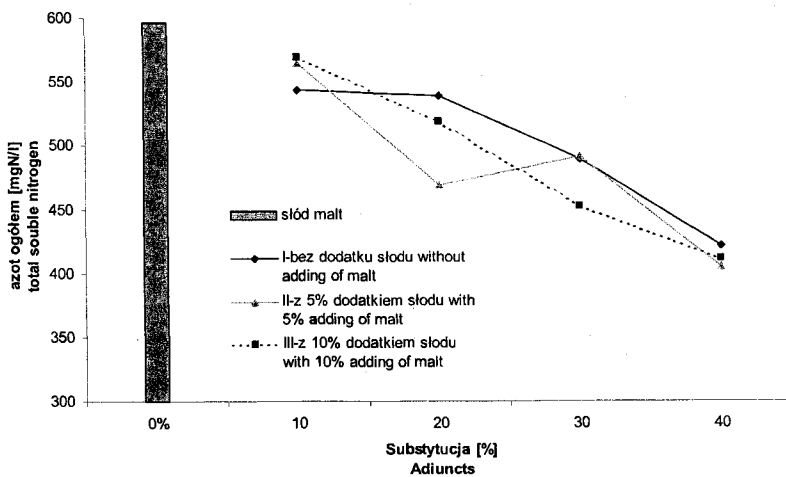
Fig. 1. The Effect of malt substitution by maize grits of 250–750 diameter and their gelatinizing method on total soluble nitrogen production in worts.

często spotykanym zjawiskiem w technologii piwowarskiej. Przyczyną jest selekcja tych odmian jęczmienia, z których ziarna produkowane są słoły o obniżonej zawartości białek. Słód użyty w doświadczeniu zawierał 10,3% białka ogółem (tab. 1).



Rys. 2. Wpływ substytucji słołu kaszką kukurydzianą o granulacji 250–500 µm oraz sposobu jej kleikowania na zawartość azotu ogółem w brzeczках.

Fig. 2. The Effect of malt substitution by maize grits of 250–500 diameter and their gelatinizing method on total soluble nitrogen production in worts.



Rys. 3. Wpływ substytucji słołu grysem kukurydzianym o granulacji 500–1250 µm oraz sposobu jego kleikowania na zawartość azotu ogółem w brzeczках.

Fig. 3. The Effect of malt substitution by maize grits of 500–1250 diameter and their gelatinizing method on total soluble nitrogen production in worts.

Tabela 1

Zawartość białka ogółem w surowcach piwowarskich.

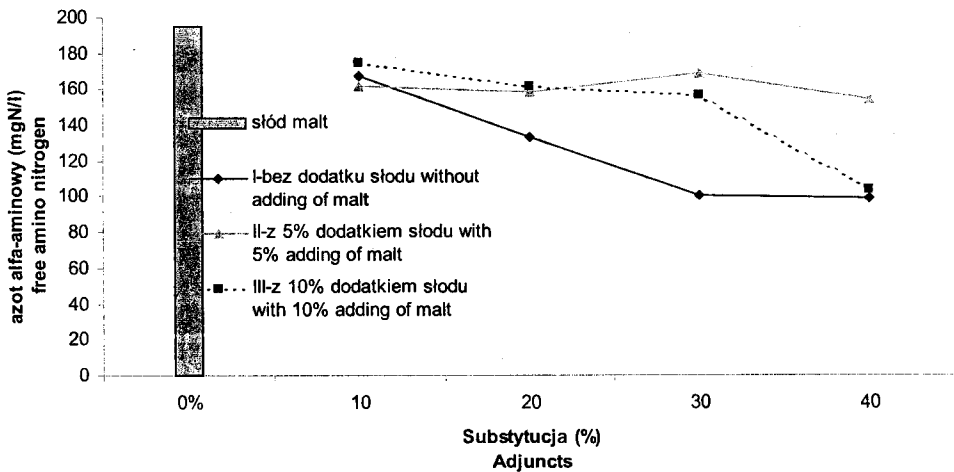
The content of proteins in brewery raw materials.

Surowiec Raw material		Białko ogółem [% s.s.] Total Protein [% d.m.]
Słód Malt		10,25
Grys kukurydziany 500–1250 μm Corn grits		7,75
Kaszka kukurydziana Fine corn grits	250–500 μm	7,88
	250–750 μm	8,81

Wg Kunzego [8], słód normatywny zawiera nie więcej niż 10,8% białka. Przy odpowiednio zmodyfikowanym procesie zacierania, poprzez wydłużenie przerwy białkowej można otrzymywać z takiego słodu brzeczki o odpowiedniej zawartości składników azotowych. Wykorzystując podczas produkcji brzeczki surowiec niesłodowany należy zakładać, że zawartość produktów hydrolizy białek będzie niższa. Zwiększając wkład zamienników słodu uzyskiwano coraz mniejszą zawartość azotu ogółem w brzeczkiach. Otrzymane wartości w żadnym z wariantów nie osiągnęły poziomu dolnej granicy normy [8]. Zróznicowanie wyników pomiędzy brzeczki z udziałem poszczególnych rodzajów przetworów kukurydzianych nie było duże. Zarówno dolne, jak i górne granice uzyskanych wartości były podobne. Zawartość azotu ogółem w brzeczce uzyskanej z dodatkiem kaszki o granulacji 250–500 μm wynosiła od 405–570 mg N/l, z dodatkiem kaszki o granulacji 250–750 μm od 360–590 mg N/l i grysu o granulacji 500–1250 μm od 357–585 mg N/l. Zastępując słód przetworami kukurydzianymi wprowadza się do zacieranej mieszaniny pewną ilość białka trudniejszego w przerobie w warzelnii, ze względu na jego ograniczoną dostępność dla enzymów proteolitycznych, ponieważ nie uległo wstępnemu zhydrolizowaniu podczas słodowania, tak jak białko zawarte w słodzie. Z reguły substancje białkowe zawarte w surowcach niesłodowanych nie ulegają w trakcie zacierania tak znacznej hydrolizie jak w słodzie i dlatego białko w nich zawarte jest w niewielkim stopniu ekstrahowane do brzeczki [4]. Z tego względu planując wykorzystanie większych niż 20% dodatków surowców niesłodowanych, wskazane byłoby użycie sładów o bardzo dobrym rozluźnieniu białkowym lub nawet o zwiększonej zawartości białka [5]. W badaniach zaplanowano warianty kleikowania surowców niesłodowanych z 5 i 10% dodatkiem słodu. Taki układ doświadczenia pozwalał na upłynnienie skrobi, ale również na wstępną obróbkę enzymatyczną składników zawartych w przetworach kukurydzianych, jak i w dodanym podczas kleikowania słodzie. Jedynie w wariantach przy niewielkim 10% udziale surrogatów słodu dodatek enzymów podczas rozplawiania skrobi kukurydzianej spowo-

dował zwiększenie średnio o 5% zawartości azotu ogółem w stosunku do wariantów, w których nie zastosowano podczas kleikowania słoðu. Modyfikacje procesu kleikowania przy większych udziałach zamienników słoðu (20, 30, 40%) nie wpłynęły wyraźnie na zwiększenie ilości azotu ogółem w brzeczczkach.

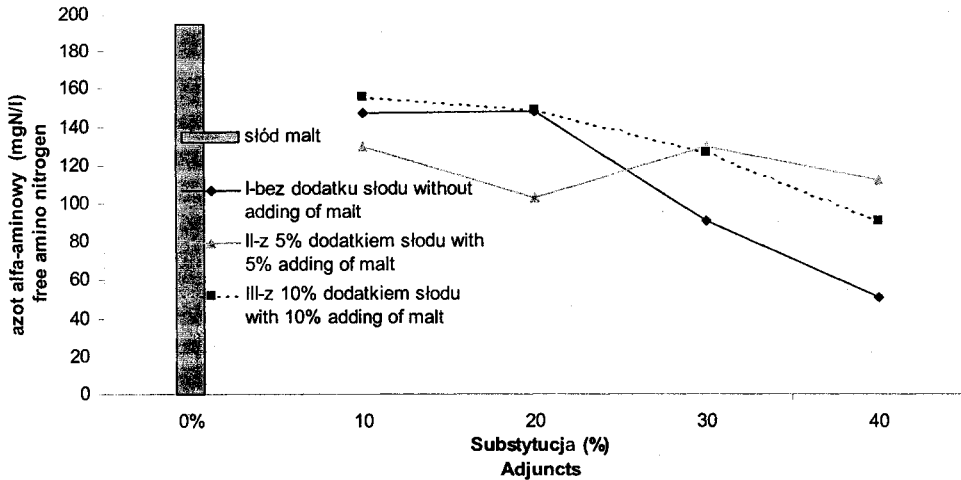
Zawartość azotu α -aminowego, zapewniająca prawidłowy przebieg fermentacji, wynosi wg Kunzego 200–300 mg N/l brzeczki [8]. Poziom 195 mg N/l jest jeszcze uznawany za wystarczający. W brzeczczkach z zacierów uzyskiwanych z dodatkiem surowców niesłodowanych dopuszcza się obniżenie progowej wymaganej zawartości azotu α -aminowego do minimalnej wartości 140–150 mg N/l. Tendencja spadkowa zawartości wolnych aminokwasów przy zwiększającym się udziale surowców niesłodowanych utrzymywała się przy użyciu wszystkich zastosowanych w doświadczeniu przetworów kukurydzianych, niezależnie od sposobu kleikowania (rys. 4–6).



Rys. 4. Wpływ substytucji słoðu kaszką kukurydzianą o granulacji 250–750 μm oraz sposobu jej kleikowania na zawartość azotu alfa-aminowego w brzeczczkach.

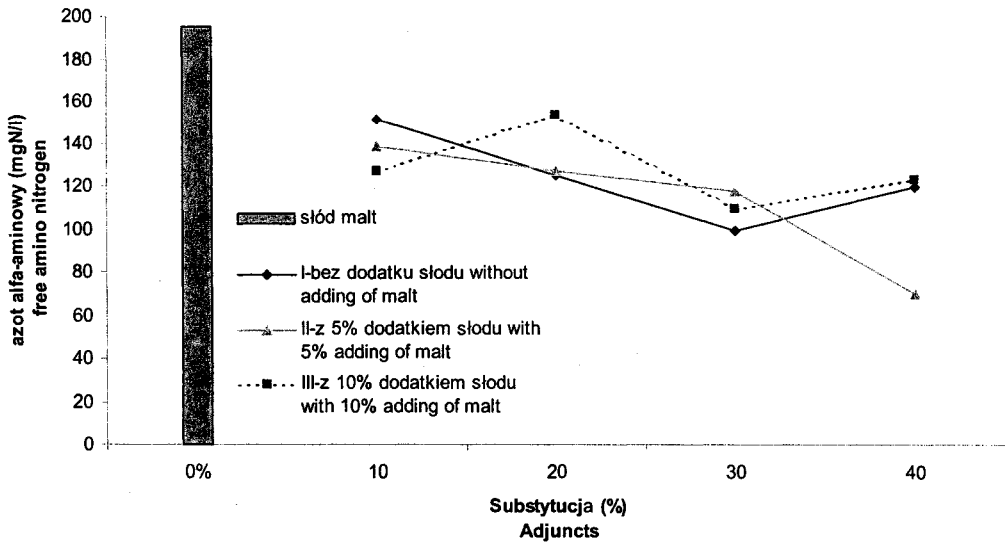
Fig. 4. The Effect of malt substitution by maize grits of 250–750 diameter and their gelatinizing method on free amino nitrogen production in worts.

Zawartość azotu α -aminowego, niezbędnego składnika brzeczki słodowej, może być czynnikiem ograniczającym udział surowca niesłodowanego w zacieranej masie. Jego zwiększająca się ilość powoduje bowiem deficyt tego składnika [1, 6, 9]. Wraz ze zwiększonym udziałem surowca niesłodowanego, ilość słoðu w ogólnej puli zacieranej masy maleje, a wraz z nim zmniejsza się też potencjał enzymatyczny mieszaniny. Stosowanie większych niż 20% dawek substytutów słoðu wymusza dodawanie egzogennych preparatów enzymatycznych.



Rys. 5. Wpływ substytucji słodu kaszką kukurydzianą o granulacji 250–500 µm oraz sposobu jej kleikowania na zawartość azotu alfa-aminowego w brzeczках.

Fig. 5. The Effect of malt substitution by maize grits of 250–500 diameter and gelatinizing method on free amino nitrogen production in worts.



Rys. 6. Wpływ substytucji słodu grysem kukurydzianym o granulacji 500–1250 µm oraz sposobu jego kleikowania na zawartość azotu alfa-aminowego w brzeczках.

Fig. 6. The Effect of malt substitution by maize grits of 500–1250 diameter and gelatinizing method on free amino nitrogen production in worts.

Najwyższe za wartości azotu α-aminowego uzyskano w brzeczках wyprodukowanych z udziałem kaszki o granulacji 250–750 µm. Był to przedział od 99–175 mg

N/l. Dodatek grysu (500–1250 μm) i kaszki (250–500 μm) powodował, że zawartość azotu α -aminowego zawierała się w przedziale odpowiednio 70–153 mg N/l i 51–156 mg N/l.

Surowce niesłodowane w postaci przetworów kukurydzianych wnoszą pewną ilość białka (tab. 1), z którego w trakcie otrzymywania brzezki można pozyskać azot α -aminowy. Kaszka o granulacji 250–750 μm charakteryzowała się wyższą, o 1% od pozostałych zastosowanych przetworów kukurydzianych, zawartością białka ogółem (8,81%). Ta różnica wynika z odmiennej granulacji tych przetworów. Gryś kukurydziany o wielkości cząstek 500–1250 μm jest produktem przemiału szklistej frakcji ziarna kukurydzy, natomiast przy wytwarzaniu drobniejszych przetworów o wielkości cząstek 250–750 μm do produktu dostaje się też frakcja mączysta ziarniaków. Stąd ta zróżnicowana zawartość substancji białkowych w surowcach, która z pewnością nie pozostaje bez wpływu na skład powstałych z ich użyciem brzeczek, zwłaszcza jeśli chodzi o produkty rozkładu białek.

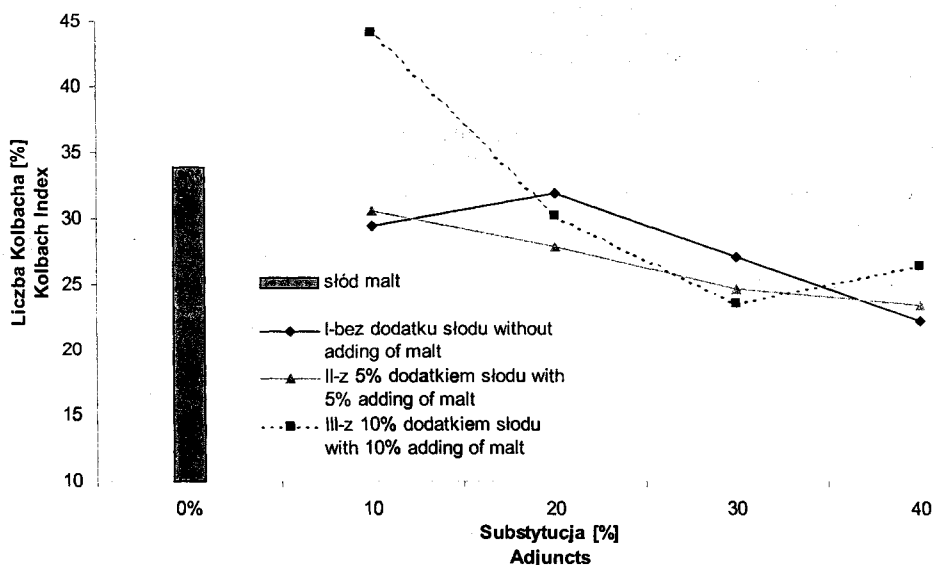
Ważny jest skład aminokwasowy białek kukurydzianych. Inny profil aminokwasowy może nie sprostać wymaganiom fizjologicznym drożdży oraz może wpływać na zmianę cech sensorycznych piwa przez wywoływanie nieprzewidzianych efektów ubocznych w czasie fermentacji.

Procentowy udział każdej z frakcji jest zbilansowany. Każda ingerencja zaburzająca te proporcje powodować będzie zmianę jakości piwa [3].

Dodatek słodu podczas kleikowania powodował zwiększenie zawartości azotu α -aminowego niezależnie od zastosowanego rodzaju i dawki surowca niesłodowanego w stosunku do wariantów kleikowania bez słodu. Na podstawie uzyskanych wyników można sądzić, że dodatek surowca niesłodowanego w ilości nieprzekraczającej 20% pozwala na uzyskiwanie brzeczek normatywnych pod względem zawartości składników aminokwasowych. Chcąc zwiększyć udział surogatów słodu należy liczyć się z obniżeniem zawartości tych składników poniżej normatywnego minimum. Użycie grysu i kaszek kukurydzianych w ilości 40% zasypu spowodowało zmniejszenie zawartości azotu α -aminowego w brzeczkach nawet do wartości 50–60 mg N/l (rys. 4–6).

Na rys. 7–9 zaprezentowano wartości liczby Kolbacha. Parametr ten związany jest ze stopniem rozluźnienia białka zawartego w mieszaninie słodu i przetworów kukurydzianych poddanych zacieraniu. Informuje ile produktów hydrolizy białek wyekstrahowano do brzezki podczas zacierania kongresowego. Jest to miernik proteolitycznego rozluźnienia mieszaniny poddanej zacieraniu. Liczba Kolbacha niższa od 35% wskazuje na średnie rozluźnienie białkowe. Uzyskane wartości po zastosowaniu przetworów kukurydzy: kaszki o granulacji 250–500 μm (26,4–33,5%), kaszki o granulacji 250–750 μm (22,3–44,1%) oraz grysu o granulacji 500–1250 μm (23,3–34,4%) we wszystkich wariantach wskazują na małą efektywność procesu proteolizy podczas zacierania. Proces ekstrakcji białek przebiegał po zastosowaniu kaszki (250–500 μm) i grysu (500–

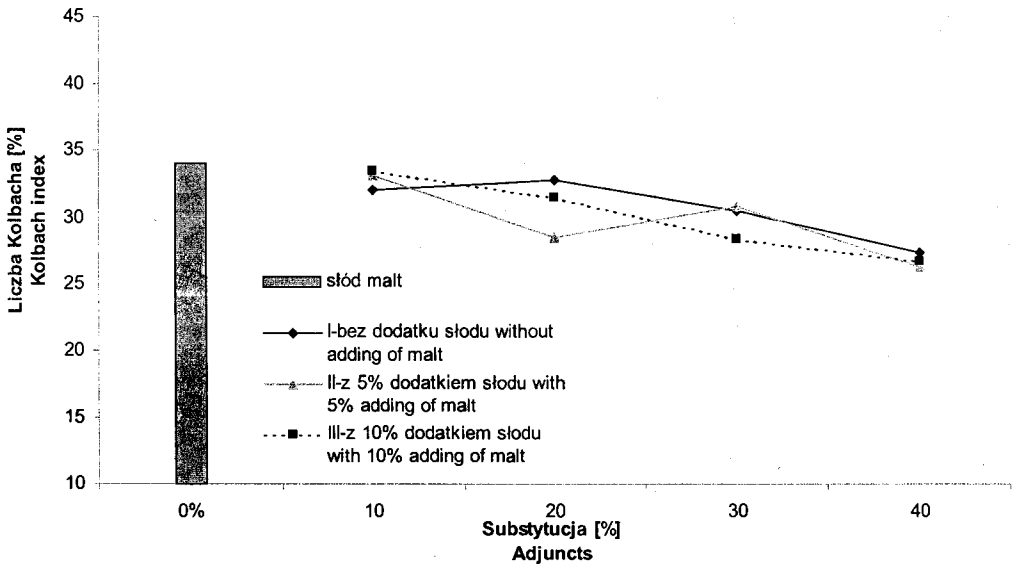
grysu (500–1250 μm) z podobną efektywnością. Można to wytłumaczyć podobną zawartością białka w tych surowcach. Białka wprowadzone wraz z kaszką (250–750 μm), zwłaszcza przy mniejszym jej udziale w zacieranej mieszance, były dobrze ekstrahowane, czemu odpowiadała wartość liczby Kolbacha 44,1%. Wraz ze zwiększającym się udziałem substytutów siodu, uzyskiwane wyniki wskazywały na utrudnienia ekstrakcji białek. Najprawdopodobniej przyczyną tego zjawiska było zwiększanie ilości białek pochodzących z surowca niesłodowanego oraz zmniejszanie ilości enzymów zawartych w mniejszej ilości siodu (warianty z 40% udziałem przetworów kukurydzy). Mimo różnic pomiędzy wynikami uzyskiwanymi w brzeczkiach wytworzonych z substytucją siodu przetworami kukurydzianymi, można stwierdzić, że granulacja nie miała zauważalnego wpływu na ekstrakcję związków białkowych.



Rys. 7. Wpływ substytucji siodu kaszką kukurydzianą o granulacji 250–750 μm oraz sposobu jej kleikowania na wartość liczby Kolbacha

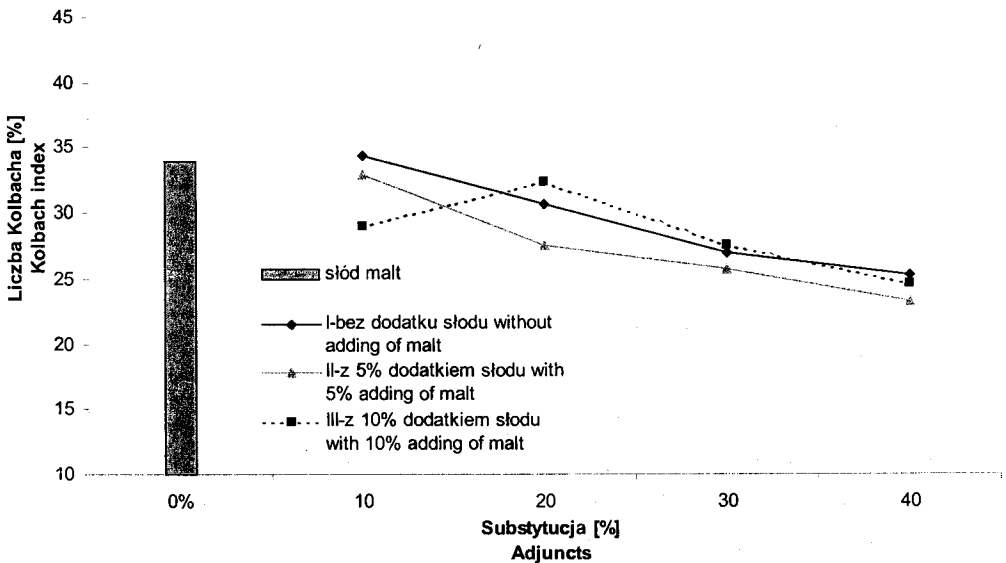
Fig. 7. The Effect of malt substitution by maize grits of 250–750 diameter and their gelatinizing method on Kolbach index

Ciekawym spostrzeżeniem okazuje się wyraźna zależność powtarzająca się niezależnie od zastosowanego rodzaju przetworu kukurydzianego przy zastosowaniu w trakcie kleikowania 10% dodatku siodu. W uzyskanych w tych wariantach brzeczkiach zaobserwowano podwyższenie zawartości azotu ogółem i azotu α -aminowego w porównaniu z ich zawartością w próbach kleikowanych bez dodatku siodu. Obok enzymów amylolitycznych w siodzie obecne są też inne grupy enzymów, które ułatwiają powstawanie w surowcu związków wchodzących w skład ekstraktu brzeczki [5]. Kleikowanie surowców niesłodowanych z dodatkiem siodu powodowało obok upłynnienia



Rys. 8. Wpływ substytucji siodu kaszką kukurydzianą o granulacji 250–500 µm oraz sposobu jej kleikowania na wartoć liczby Kolbacha

Fig. 8. The Effect of malt substitution by maize grits of 250–500 diameter and their gelatinizing method on Kolbach index



Rys. 9. Wpływ substytucji siodu grysem kukurydzianym o granulacji 500–1250 µm oraz sposobu jego kleikowania na wartoć liczby Kolbacha

Fig. 9. The Effect of malt substitution by maize grits of 500–1250 diameter and their gelatinizing method on Kolbach index

skrobi również wstępną hydrolizę składników przetworów kukurydzianych, jak również wprowadzonego wraz z nimi słodu. Tendencja podwyższonej zawartości azotu ogółem, jak i aminokwasowego może być efektem wstępnej proteolizy białek już na etapie przygotowania surowca bądź też konsekwencją koagulacji białek mieszaniny kukurydzy i słodu poddanych działaniu wysokiej temperatury. Wydaje się, że kleikowanie surowca niesłodowanego ze słodem może być traktowane jako sposób na unikanie dozowania enzymów egzogennych oraz jako zabieg zwiększający zawartość produktów hydrolizy enzymatycznej białek w brzezcach. Z technologicznego punktu widzenia zwiększenie dawek słodu na etapie kleikowania surowca niesłodowanego może w znaczący sposób eliminować niedobory produktów hydrolizy enzymatycznej białek w brzezcach słodowych.

Wnioski

Przekroczenie 20% dodatku surowców niesłodowanych bez wsparcia enzymów egzogennych powoduje zmniejszenie zawartości azotu ogółem i azotu α -aminowego do wartości mniejszych niż wymagane w produkcji piwa w tankach cylindryczno-stożkowych.

Sposób kleikowania grysu i kaszek kukurydzianych bardziej różnicował brzezki pod względem ich zasobności w produkty hydrolizy enzymatycznej białek niż ich granulacja.

Zwiększenie z 5 do 10% udziału słodu stosowanego w trakcie kleikowania grysu i kaszek kukurydzianych powoduje znaczące zwiększenie ilości azotu α -aminowego w brzezcach.

Literatura

- [1] Agu R.C.: A comparison of maize, sorghum and barley as brewing adjuncts. J. Institute of Brewing, 2002, **108/1**, 19-22.
- [2] Analytica-EBC: Verlag Hans Carl Getraenke-Fachverlag, Nurnberg 1998.
- [3] Antkiewicz P., Poreda A., Kuchciak T.: Modyfikacje procesu zacierania różnych surowców w celu uzyskania normatywnej brzezki. Materiały VIII Szkoły Technologii Fermentacji, Jamrozowa Polana 2003, s. 77-101.
- [4] Baca E.: Rola surowców niesłodowanych w kształtowaniu cech sensorycznych piwa. Materiały VI Szkoły Technologii Fermentacji, Szczyrk 2001, s. 113-125.
- [5] Błażewicz J.: Możliwości zastosowania produktów przemiału polskiej kukurydzy w piwowarstwie. Materiały VIII Szkoły Technologii Fermentacji, Jamrozowa Polana 2003, s. 102-117.
- [6] Grujic O.: Application of unconventional raw materiale and procedures in wort production. J. Institute of Brewing, 1999, **105/5**, 275-278.
- [7] Jurga R.: Możliwości wykorzystania produktów przemiału kukurydzy, Przegł. Zboż.-Młyn., 2003, **3**, 9-12.
- [8] Kunze W.: Technologia piwa i słodu. Piwochmiel Sp. z o.o., Warszawa 1999.

- [9] Palmer G.H.: Dodatki niesłodowane w piwowarstwie i gorzelnictwie, Materiały III Szkoły Technologii Fermentacji, Kraków-Zakopane 1998, s. 64-77.
- [10] Pawlikowska-Mandziak M.B.: Możliwości zastosowania kukurydzy w przemyśle piwowarskim. Przem. Ferm. Owoc. Warz. 1997, 11, 12-14.

THE EFFECT OF MALT SUBSTITUTION BY MAIZE PRODUCTS ON FAN PRODUCTION IN LABORATORY WORTS

S u m m a r y

The object of this study was to assess how the Malt substitution with maize products and several preparing methods influence the content of free amino nitrogen and total soluble nitrogen in laboratory worts. The raw materials for this study were barley malt and several granulated corn products: maize grits (500–1250 μm) and fine maize grits (250–500 μm and 250–750 μm). The unmalted raw material was submitted to gelatinization. Corn products were mixed with water in proportion 1:5 and gelatinized at 90°C for 10 min. and then cooled to 45°C. The adjuncts were differently treated: (1) without enzymes, (2) with 5% adding of malt and (3) with 10% adding of malt as natural source of enzymes. Native maize prepared by above methods was added in proportions 10, 20, 30 and 40%. Mashing at 45°C was started immediately after gelatinization process. Experiments were carried out on a laboratory scale by using an infusion mashing procedure for wort production. In this way obtained worts, free amino nitrogen by ninhydrin method and total soluble nitrogen by Kjeldhal method.

Larger were determined than 20% amounts of maize decreased content of soluble nitrogen and free amino nitrogen what was insufficient for proper yeast metabolism.

Key words: malt, cereal adjuncts, maize, free amino nitrogen, total soluble nitrogen. ✱

STANISŁAW KALISZ, MARTA MITEK

ZAWARTOŚĆ SKŁADNIKÓW O WŁAŚCIWOŚCIACH PRZECIWUTLENIAJĄCYCH W SOKACH I NAPOJACH Z OWOCÓW KOLOROWYCH

Streszczenie

Oceniano soki produkowane z przeznaczeniem dla dzieci i napoje skierowane przede wszystkim do młodzieży. Produkty te otrzymane były z owoców kolorowych, bądź z ich dodatkiem. Badano w nich zawartość antocyjanów, polifenoli oraz aktywności przeciwutleniającej. W wyniku przeprowadzonych prac stwierdzono, że soki zawierały 1,5–4,6 razy więcej związków polifenolowych aniżeli napoje. Badane soki wykazywały aktywność przeciwutleniającą na poziomie 28,9–55,73 $\mu\text{moli Troloxu/ml}$, przewyższając w tym względzie 3-8-krotnie napoje z owoców kolorowych. Ponadto potwierdzono, że o poziomie aktywności przeciwutleniającej w głównej mierze decyduje nie rodzaj użytego składnika owocowego, lecz jego ilość i jakość.

Słowa kluczowe: soki, napoje, aktywność przeciwutleniająca, polifenole.

Wstęp

Dostosowując asortyment produkcji do gustów klientów, firmy wprowadzają soki i napoje o szeroko rozumianej funkcjonalności poczynawszy od cech opakowania, a skończywszy na modyfikowanym ich składzie. Jednocześnie następuje segmentacja rynku, która dotyczy nie tylko grup odbiorców (np. dzieci, młodzież), ale także dostosowywania soków i napojów do pory dnia, czy aktywności fizycznej potencjalnych nabywców [1, 11].

Zmieniające się preferencje stwarzają możliwości rozwoju szczególnie nowych rodzajów napojów pozyskiwanych na bazie soków. Opracowywanie nowych i udoskonalanie stosowanych procesów technologicznych pozwala oferować produkty kojarzone przez odbiorcę z naturalnym pochodzeniem i najwyższą jakością.

Stosowanie zestawienia różnych komponentów oraz dodatków funkcjonalnych lub uzupełniających, szczególnie składników bioaktywnych podnosi wartość odżywcza i profilaktyczną napojów [8, 11].

W ostatnim czasie znacząco zwiększa się zainteresowanie właściwościami przeciwutleniającymi, a cechy takie wykazują między innymi owoce, warzywa i ich przetwory. Jest to tym istotniejsze, że w przypadku antyoksydantów naturalnego pochodzenia jednocześnie może występować wiele związków, które mogą wykazywać działanie synergistyczne [6, 10].

Celem niniejszej pracy było porównanie zawartości antocyjanów i polifenoli w sokach i napojach z owoców kolorowych, jako substancji o właściwościach biologicznie czynnych, ze szczególnym uwzględnieniem ich właściwości przeciwutleniających.

Material i metody badań

Przedmiotem badań były soki i napoje z owoców kolorowych dostępne w handlu detalicznym. Zgodnie z deklaracją producenta badane soki były przeznaczone dla dzieci. Z kolei poddane ocenie napoje są lansowane przez wytwórców jako produkt dla młodzieży. Prezentowane w pracy wyniki dotyczą badań czterech rodzajów soków i czterech wybranych napojów. Skład surowcowy użytych do badań produktów przedstawiono w tab. 1.

Zawartość antocyjanów ogółem oznaczano metodą Francisa i Fuleki [3], natomiast polifenole metodą Folin-Ciocalteu [7]. Siłę zmiatania wolnych rodników 2,2 difenyl-1-pikrylhdrazylowych (DPPH) oraz siłę redukującą oznaczano według metody ustalonej przez Yena oraz Chena [9].

Wyniki i dyskusja

Badane soki i napoje charakteryzowały się stosunkowo niską zawartością barwników antocyjanowych (tab. 2). Największą ich ilość stwierdzono w wieloskładnikowym soku S3 (aronia, czarne porzeczki, jabłka, maliny, borówki) – 11,7 mg/100g i jednoskładnikowym wiśniowym S4, 11,2 mg/100 g. Soki S1 (aronia, jabłka, truskawki, maliny) i S2 (winogrona, aronia, czarne porzeczki, jabłka) zawierały odpowiednio 6,6 i 8,1 razy mniej antocyjanów w porównaniu z najlepszym sokiem S3.

Przeprowadzone badania wykazały, że zawartość antocyjanów ściśle korelowała z wartością indeksu degradacji. W badanej grupie produktów, bogate w antocyjany soki S3 i S4 charakteryzowały się niskim poziomem degradacji wynoszącym od 1,6 do 1,9. Dla porównania stosunkowo ubogie w antocyjany soki S1 i S2 wykazywały stopień degradacji odpowiednio 5,0 i 3,8.

Tabela 1

Skład surowcowy soków i napojów poddanych badaniom.
Material composition of juices and drinks under the study.

Kod próbki Code of a sample	Soki dla dzieci Juices for children				Napoje dla młodzieży Drinks for the youth			
	S1	S2	S3	S4	N1	N2	N3	N4
Rodzaj surowca Type of a material								
Winogrona Grapes		+						+
Aronia Chokeberries	+	+	+		+	+		
Czarne porzeczki Black-currants		+	+		+	+		+
Jabłka Apples	+	+	+		+	+		+
Truskawki Strawberries	+							
Cytryny Lemons								+
Wiśnie Cherries				+				+
Maliny Raspberries	+		+					
Owoce leśne Forest fruits							+	
Borówka czernica Blueberries			+					
Ekstrakt z żeń-szenia Solids extracted from ginseng					+			
Ekstrakt z zielonej herbaty Solids extracted from green tea							+	

Źródło: opracowanie własne na podstawie składu podanego przez producentów na opakowaniach soków i napojów.

W grupie analizowanych napojów najbogatszy w związki antocyjanowe był napój N2 (aronia, czarne porzeczki, jabłka, wiśnie) z zawartością 7,2 mg/100 g i indeksem ich degradacji wynoszącym 1,4. W pozostałych napojach stwierdzono od 3-krotnie

(w napoju N1 z dodatkiem żeń-szenia) do blisko 9-krotnie (w napoju N4 z dodatkiem soku z cytryny) mniej antocyjanów w stosunku do napoju aroniowo-porzeczkowo-jabłkowego N2. Analogicznie jak w sokach, mniejsza zawartość antocyjanów w napojach wiązała się z ich większym stopniem degradacji, który w przypadku napoju N4 wyniósł 2,5.

Tabela 2

Zawartość związków polifenolowych i aktywność przeciwutleniająca badanych soków i napojów.
The content of polyphenols and the antioxidant activity in juices and drinks studied.

Rodzaj produktu Product type	Badane parametry Parameters studied		
	Zawartość antocyjanów Anthocyanins content [mg/100 g]	Zawartość polifenoli (jako kwas gallusowy) Polyphenols content (gallic amid equivalent) [mg/100g]	Aktywność przeciwutleniająca [μmoli Troloxu /ml] Antioxidant activity [μmoles of Trolox eq./l ml]
Soki / Juices			
S1	1,8	110,6	55,73
S2	1,4	105,0	39,72
S3	11,7	84,2	27,64
S4	11,2	70,3	18,9
Napoje / Drinks			
N1	2,5	76,0	6,74
N2	7,3	65,3	7,08
N3	1,3	31,5	1,47
N4	0,8	23,8	2,70

W przypadku produktów o zróżnicowanym składzie surowcowym, wykazane różnice w zawartości związków antocyjanowych mogą być wynikiem różnej ilości poszczególnych komponentów owocowych. Ponadto poszczególne składniki owocowe wchodzące w skład badanych soków i napojów mają odmienny profil antocyjanowy, co niewątpliwie wpływa na ich stabilność w trakcie procesu technologicznego.

Wykazane w badaniach tendencje są także związane z faktem, że kupażowanie mocno zróżnicowanych ilości poszczególnych składników owocowych może powodować stosunkowo niską koncentrację barwników antocyjanowych, ich małą stabilność, a pośrednio wpływać na ostatecznie małą ich ilość w produkcie finalnym. Ma to szczególne znaczenie w przypadku napojów, gdyż w polskim ustawodawstwie nie ma zagwarantowanej minimalnej ilości składnika owocowego. Pozwala to producentom na dość dużą swobodę w tym względzie, a tym samym nie pozostaje bez wpływu na wartość żywieniową ostatecznego produktu.

Najwyższą zawartość polifenoli ogółem oznaczono w soku S1 gdzie w 100 g próbki było 110,6 mg badanych związków (tab. 2). W pozostałych sokach o mieszanym składzie surowcowym (S2 i S3) stwierdzono odpowiednio 105,0 i 84,2 mg związków polifenolowych w przeliczeniu na 100 g badanej próbki. Natomiast sok wiśniowy zawierał 70,3 mg polifenoli ogółem.

Spośród badanych napojów najwyższą zawartość polifenoli stwierdzono w napoju N1 (76 mg/100g), który w swoim składzie zawierał soki aroniowy, z czarnej porzeczki, jabłkowy oraz ekstrakt z żeń-szenia. Podobny pod względem składu jakościowego napój N2, jedynie bez ekstraktu z żeń-szenia, zawierał 65,3 mg związków polifenolowych w 100 g próbki. W pozostałych analizowanych napojach zawartość polifenoli była 2,4-krotnie (napój N3) i 3,2-krotnie (napój N4) niższa w porównaniu z produktem N1. Dodatek takich składników, jak np. ekstrakt z zielonej herbaty, któremu przypisuje się wysoką zawartość polifenoli, jak i niezwykle cenne właściwości przeciwutleniające zasadniczo nie wzbogacił produktu w te związki [9].

Napoje były uboższe w związki polifenolowe w stosunku do soków. W porównaniu z próbką soku S1, w napojach ilość tych biologicznie czynnych substancji była od 1,5 (N1) do 4,6 razy (N4) mniejsza. Przepuszczalnie tak duże różnice wynikają przede wszystkim ze specyfiki produktu. Napoje z uwagi na duże rozcieńczenie składnika owocowego zawierają w swoim składzie znacznie mniej cennych dla zdrowia substancji. Jest to tym bardziej istotne, że zawartość związków polifenolowych w znaczący sposób wpływa na aktywność przeciwutleniającą produktu [9, 10].

Dzięki dużej liczbie grup hydroksylowych związki polifenolowe są bardzo labilne, łatwo się utleniają, reagują ze sobą i innymi składnikami środowiska. Im więcej grup hydroksylowych w cząsteczce, tym bardziej polifenole wykazują podatność na reakcje utleniania, polimeryzacji i kondensacji [4].

Różnice pomiędzy sokami i napojami jeszcze wyraźniej zarysowały się przy określaniu zdolności zmiatania wolnych rodników (tab. 2). Największą aktywność przeciwutleniającą wykazywał sok S1 (55,73 μ moła Troloxu/ml próbki). W porównaniu z nim w pozostałych sokach S2, S3, S4 zdolność zmiatania wolnych rodników była odpowiednio 1,4; 2 i 2,9 razy niższa. W poddanych analizie napojach badana aktywność antyrodnikowa utrzymywała się na niskim poziomie wynoszącym od 7,1 μ moła Troloxu/ml próbki w przypadku napoju N2 do 1,47 μ moła Troloxu/ml próbki w napoju N3 z dodatkiem ekstraktu z zielonej herbaty. W porównaniu z sokiem aroniowo-jabłkowo-truskawkowo-malinowym o najlepszej zdolności zmiatania wolnych rodników, w napojach aktywność ta była w napoju N2 7,9 razy mniejsza, a w N3 39,9 razy mniejsza.

Właściwości przeciwutleniające są powiązane ze składem ilościowym i jakościowym produktów. Jednak w obrębie produktów z owoców tego samego gatunku mogą występować nawet znaczne różnice we właściwościach przeciwutleniających, co

wynika z odmienności surowca oraz zastosowanej technologii otrzymywania. Ponadto należy pamiętać, że substancje występujące w produkcie poprzez wzajemne współdziałanie determinują jego cechy. Jest to szczególnie istotne w przypadku tak złożonych układów, jakimi są soki i napoje. Wyższa skuteczność przeciwutleniająca soków wiąże się z faktem, że produkt ten pod względem składu chemicznego jest zbliżony do surowca, a żadna mieszanina związków aktywnych biologicznie (np. w napojach funkcjonalnych) nie jest w stanie zastąpić naturalnego układu związków [2, 5, 10].

Wnioski

1. Soki z owoców kolorowych (o zróżnicowanym składzie surowcowym) wykazywały aktywność przeciwutleniającą na poziomie $18,90 \div 55,73 \mu\text{mola Troloxu/ml}$, przewyższając w tym względzie 3-8-krotnie oceniane napoje owocowe.
2. Właściwości przeciwutleniające soków i napojów są wypadkową zawartości substancji biologicznie czynnych wprowadzonych wraz z surowcem owocowym, ale o poziomie tej aktywności nie decyduje rodzaj użytego składnika owocowego, lecz jego ilość i jakość.

Literatura

- [1] Cools K.: Rozwój światowego rynku soków i napojów (1). *Przem. Ferm. Owoc. Warz.*, 2000, **10**, 29-32.
- [2] Chu Y-H., Chang C-L., Hsu H-F.: Flavonoid content of several vegetables and their antioxidant activity. *J. Sci. Food Agric.*, 2000, **1**, 561-566.
- [3] Fuleki T., Francis F.J.: Quantitative methods for anthocyanins, *J. Food Sci.*, 1968, **33**, 72.
- [4] Gasik A.: Rola związków polifenolowych w tworzeniu cech sensorycznych żywności. *Przem. Spoż.*, 1983, **7**, 352-356.
- [5] Mitek M., Kalisz S.: Współczesne poglądy na właściwości przeciwutleniające soków owocowych i warzywnych. *Przem. Spoż.*, 2003, **5**, 37.
- [6] Moure A., Cruz J. M., Franco D., Dominguez J. M., Sineiro J., Domínguez H., Núñez M. J., Parajó J. C.: Natural antioxidants from residual sources. *Food Chem.*, 2001, **72**, 145-171.
- [7] Peri C., Pompei G.: An assay of different phenolic fraction in wines, *Am. J. Enol. Vitic.*, 1971, **22** (2), 55.
- [8] Post G.: Żywność i napoje funkcjonalne – czy jest to ważna grupa produktów?. *Przem. Ferm. Owoc. Warz.*, 2002, **5**, 18-19.
- [9] Yen G-C, Chen H-Y: Antioxidant activity of various tea extracts in relation to their antimutagenicity. *J. Agric. Food Chem.*, 1995, **43**, 27-32.
- [10] Zając B., Podsędek A.: Skład i właściwości przeciwutleniające wybranych handlowych soków owocowych. *Przem. Ferm. Owoc. Warz.*, 2002, **2**, 14-16.
- [11] Zdziennicka D., Krugła E.: Owocowo-warzywno napoje i soki funkcjonalne. *Przem. Ferm. Owoc. Warz.*, 2001, **5**, 24-25.

**THE CONTENT OF COMPONENTS SHOWING ANTIOXIDANT PROPERTIES
IN JUICES AND DRINKS MADE OF COLOR FRUITS****S u m m a r y**

In this paper, the authors present their assessment of both the juices, manufactured mainly for children, and the drinks produced for the youths. The products under assessment were made either of pure color fruits, or color fruits were added to them. On the basis of the results obtained, it was stated that the juices contained 1.5 to 4.6 times more polyphenols than the drinks. The juices investigated showed an antioxidant capacity at a level of 28.9 to 55.75 μmol of Trolox/ml showed, thus, their antioxidant capacity was 3 to 8 times higher than the antioxidant capacity of drinks made of color fruits. Additionally, it was stated that the quantity and quality of the main fruit component used in the juices and drinks decidedly influences the level of the antioxidant capacity, and not its type.

Key words: juices, drinks, antioxidant activity, polyphenols. ☒

MAGDALENA KOPERA, MARTA MITEK

CHARAKTERYSTYKA CHEMICZNA OWOCÓW WYBRANYCH ODMIAN GRUSZY AZJATYCKIEJ (*PYRUS PYRIFOLIA*)

Streszczenie

Owoce gruszy azjatyckiej odmian Shinseiki, Hosui i Chojuro scharakteryzowano pod względem składu chemicznego. Oznaczono zawartość suchej substancji, ekstraktu, cukrów redukujących, kwasowość, a także zawartość fenolokwasów i katechin. Dokonano identyfikacji związków fenolowych metodą chromatografii gazowej w owocach całych (miąższu ze skórką), miąższu i skórcie. W owocach badanych odmian stwierdzono duże zróżnicowanie pod względem zawartości cukrów bezpośrednio redukujących, przy czym odmiana Hosui zawierała ich dwukrotnie więcej (8,33%) niż odmiana Shinseiki (4,23%). Wykazano także różnice w zawartości ekstraktu ogólnego, kwasowości i katechin. Gruszki odmiany Shinseiki zawierały 6,6 mg% katechin, a odmiany Hosui do 20,5 mg%. Nie stwierdzono natomiast istotnych statystycznie różnic w zawartości kwasów fenolowych pomiędzy odmianami.

Słowa kluczowe: gruszki azjatyckie, fenolokwasy, skład chemiczny.

Wprowadzenie

Uprawiane w Japonii odmiany gruszy japońskiej należą głównie do gatunku *Pyrus pyrifolia* Nakai (*P. serotina* Rehder) i znane są pod nazwą Nashi. Są to rodzime odmiany Japonii, południowych Chin, Korei i dlatego w literaturze zachodniej określane są również jako grusze azjatyckie. Owoce gruszy Nashi z wyglądu są bardzo atrakcyjne, przy czym najbardziej cenione są odmiany o owocach w kształcie jabłka. W zależności od zabarwienia owoców wyróżnia się dwie grupy odmian: o skórcie brązowej (Hosui, Chojuro) i żółtozielonej (Shinseiki). Owoce osiągają dojrzałość konsumpcyjną na drzewach i są bardzo soczyste [3, 6].

Grusze japońskie uprawiane są również w Ameryce Północnej, Nowej Zelandii i w niektórych krajach Europy. W Polsce są jeszcze mało znane. W SGGW w Warszawie badania nad gruszkami Nashi rozpoczęto w 1996 r. Ocena wielu odmian gruszy

azjatyckiej jest prowadzona również w Instytucie Sadownictwa i Kwaciarstwa w Skierniewicach [2].

Z obserwacji przeprowadzonych w ISK wynika, że w naszych warunkach klimatycznych z powodzeniem mogą być uprawiane wszystkie badane odmiany gruszy azjatyckiej. Od odmian europejskich nie różnią się one bowiem zasadniczo fenologią. Nie mają też specjalnych wymagań klimatyczno-glebowych, natomiast wcześniej wchodzi w owocowanie, zaś owoce odznaczają się oryginalnym smakiem i wyglądem. Zaletą gruszy azjatyckich jest również stosunkowo długie utrzymywanie się owoców na drzewie bez przejrzenia [2].

W Polsce nie poddawano dotychczas analizie chemicznej owoców gruszy azjatyckiej. Dlatego celem niniejszych badań była próba scharakteryzowania owoców gruszy azjatyckiej trzech odmian Shinseiki, Hosui i Chojuro pod względem składu chemicznego, ze szczególnym uwzględnieniem zawartości fenolokwasów.

Materiał i metody badań

Do badań użyto owoców trzech odmian gruszy azjatyckiej: Shinseiki, Hosui, Chojuro, pochodzących z sadu doświadczalnego Katedry Sadownictwa i Przyrodniczych Podstaw Ogrodnictwa SGGW w Warszawie. Zbioru dokonywano w sierpniu (Shinseiki) i wrześniu (Hosui i Chojuro) 2002 r. po osiągnięciu dojrzałości zbiorczej. Z każdej odmiany trzykrotnie pobrano do badań po 10 gruszek.

W owocach gruszy oznaczano: suchą masę metodą wagową wg PN [7], ekstrakt refraktometryczny za pomocą refraktometru Abbego [1], kwasowość miareczkową wg PN [8], cukry redukujące metodą Luffa-Schoorla [1]. Do oznaczania polifenoli ogółem zastosowano metodę z odczynnikiem Folin-Ciocalteu'a [5]. Czynnikiem ekstrahującym był metanol. Zawartość katechin określano metodą Swaina i Hillisa [10].

Dokonano także identyfikacji kwasów fenolowych metodą chromatografii gazowej w całych owocach, ich miąższu i skórce. Surowiec ekstrahowano przy użyciu 80% metanolu. Z uzyskanego ekstraktu metanolowego wyodrębniono frakcje wolnych i związanych kwasów fenolowych po hydrolizie alkalicznej i kwaśnej przeprowadzonej metodą Krzaczk [4]. Analizę poszczególnych frakcji kwasów przeprowadzano po ich uprzedniej silylacji metodą Mority w temp. 60°C z zastosowaniem BSTFA-N,O-bis-trójmetylosililo-trójfluoroacetamidu (Flucka). Identyfikację związków fenolowych wykonywano na podstawie czasów retencji standardów. Do oznaczeń użyto chromatografu gazowego firmy Hewlett Packard model 6890, stosując detektor FID i kolumnę kapilarną HP-5 dł. 30 m., szer. 0,32 mm. Objętość próbki wynosiła 1 µl.

W celu stwierdzenia różnic w składzie chemicznym gruszek pomiędzy poszczególnymi odmianami przeprowadzono jednoczynnikową analizę wariancji, a uzyskane różnice weryfikowano testem Duncana, na poziomie istotności $\alpha = 0,05$

Wyniki i dyskusja

Wyniki składu chemicznego owoców trzech odmian gruszy azjatyckiej przedstawiono w tab. 1.

Tabela 1

Skład chemiczny owoców trzech odmian gruszy azjatyckiej.
Chemical characteristics of three Asian pear cultivars.

Odmiana Cultivar	Sucha masa Dry matter [%]	Ekstrakt Soluble solids [%]	Cukry bezpośrednio redukujące Monosacharydes [%]	Kwasowość (jako kwas jabłkowy) Acidity (as malic acid) [%]	Polifenole ogółem Total phenolics [mg%]	Katechiny Catechins [mg%]
Shinseiki	15,3 a	12,8 b	4,23 a	0,27 b	141 a	6,6 a
Hosui	14,0 a	11,9 a	8,33 c	0,18 a	140 a	20,5 c
Chojuro	15,1 a	13,1 b	5,83 b	0,18 a	102 a	14,9 b

Wartości średnie oznaczone tą samą literą nie różnią się statystycznie istotnie na poziomie $\alpha=0,05$;
Mean values denoted by the same letter do not significantly differ at $\alpha=0.05$ level

Średnia zawartość suchej masy w badanych owocach wahała się w zakresie od 14,0% (Hosui) do 15,3% (Shinseiki). Owoce odmiany Hosui zawierały średnio 11,9% ekstraktu ogólnego, podczas gdy w gruszkach odmiany Shinseiki i Chojuro stwierdzono odpowiednio 12,8 i 13,1% ekstraktu. Natomiast w owocach gruszy europejskiej zawartość suchej masy wynosi od 15 do 20%, a ekstraktu średnio 13% [9].

W badanych odmianach owoców gruszy azjatyckiej stwierdzono duże zróżnicowanie zawartości cukrów redukujących. W owocach odmiany Hosui stwierdzono 8,33% cukrów redukujących, to jest dwukrotnie więcej niż w odmianie Shinseiki (4,23%). Ważnym parametrem owoców jest kwasowość, która decyduje o przydatności do przetwórstwa. Wśród badanych odmian najwyższą kwasowością charakteryzowały się owoce odmiany Shinseiki (0,27%). Nieco niższą kwasowość miały owoce odmian Hosui i Chojuro (0,18%). Podobnie kwasowość owoców europejskich odmian gruszy zawiera się w przedziale 0,1–0,6% [9].

Zawartość w owocach polifenoli ogółem oraz katechin jest również ważna z punktu widzenia przetwórstwa oraz ze względu na ich właściwości zdrowotne. Z danych przedstawionych w tab. 1. wynika, że wśród badanych odmian nie stwierdzono

Tabela 2

Identyfikacja związków fenolowych i katechin w owocach gruszy azjatyckiej odmiany Shinseiki [%].
The content and composition of phenolic acids and catechins in a Shinseiki cultivar [%].

Kwas Acid	Cały owoc Whole fruits			Miąższ Pulp			Skórka Peel		
	wolne kwasy fenolowe free phenolic acids	po hydrolizie alkalicznej after the alkaline hydrolysis	po hydrolizie kwaśnej after the acidic hy- drolysis	wolne kwasy fenolowe free phenolic acid	po hydrolizie alkalicznej after the alkaline hydrolysis	po hydrolizie kwaśnej after the acidic hy- drolysis	wolne kwasy fenolowe free phenolic acid	po hydrolizie alkalicznej after the alkaline hydrolysis	po hydrolizie kwaśnej after the acidic hydrolysis
cynamonowy cinnamic	0,784	- ⁽¹⁾	-	0,638	-	-	-	-	-
p-hydroksybenzoesowy p-hydroxybenzoic	27,140	64,700	21,855	70,770	70,202	73,050	68,383	38,119	
pyrokatechowy pyrocatechuic	2,407	-	-	0,747	-	-	-	-	
wanilinowy vanillic	-	-	-	-	-	-	-	-	
gentyzowy gentisic	-	-	3,385	-	0,871	0,378	0,736	1,285	
2 hydroksycynamowy 2 hydroxycinnamic	-	-	-	-	-	-	-	-	
prokatechowy procatechuic	-	-	-	-	-	-	-	-	
p-kumarowy p-cumaric	-	-	-	-	-	-	-	-	
katechina catechin	1,234	-	-	0,530	-	-	0,699	-	

¹ nie zidentyfikowano
² not identified

Tabela 3

Identyfikacja związków fenolowych i katechin w owocach gruszy azjatyckiej odmiany Hosui [%].
The content and composition of phenolic acids and catechins in the Hosui cultivar [%].

Kwas Acid	Cały owoc Whole fruits		Miąższ Pulp		Skórka Peel		
	wolne kwasy fenolowe free phenolic acid	po hydrolizie alkalicznej after alkaline hydrolysis	wolne kwasy fenolowe free phenolic acid	po hydrolizie alkalicznej after alkaline hydrolysis	wolne kwasy fenolowe free phenolic acid	po hydrolizie alkalicznej after alkaline hydrolysis	po hydrolizie kwaśnej after acid hydrolysis
Cynamonowy cinnamic	- ⁽¹⁾	3,675	-	0,620	-	-	2,920
p-hydroksybenzoesowy p-hydroxybenzoic	72,360	95,549	75,318	84,170	81,941	86,182	56,925
pyrokatechowy pyrocatechuic	2,208	-	0,864	0,554	0,606	0,696	0,518
wanilinowy vanillic	-	-	-	-	-	-	-
gentyzowy gentisic	-	-	-	1	-	-	-
2 hydroksycynamowy 2 hydroxycinnamic	-	-	-	-	-	-	-
prokatechowy procatechuic	-	-	-	-	-	-	-
p-kumarowy p-cumaric	3,425	1,221	6,020	3,430	5,520	3,251	1,283
katechyna catechin	1,570	-	0,595	-	0,996	-	-

„-” nie zidentyfikowano

„1” not identified

Identyfikacja związków fenolowych i katechin w owocach gruszy azjatyckiej odmiany Chojuro [%].
 Presence and composition of phenolic acids and catechins in the Chojuro cultivar [%].

Kwas Acid	Cały owoc Whole fruits		Miąższ Pulp		Skórka Peel	
	wolne kwasy fenolowe free phenolic acid	po hydrolizie alkalicznej alkaline hydrolysis	wolne kwasy fenolowe free phenolic acid	po hydrolizie alkalicznej alkaline hydrolysis	wolne kwasy fenolowe free phenolic acid	po hydrolizie alkalicznej alkaline hydrolysis
		po hydrolizie kwaśnej acidic hy- drolysis		po hydrolizie kwaśnej acidic hy- drolysis		po hydrolizie kwaśnej after the acidic hy- drolysis
cynamonowy cinnamic	- (1)	-	-	-	-	-
p-hydroksybenzoesowy p-hydroxybenzoic	72,830	38,477	82,585	89,982	77,110	66,027
pyrokatechowy pyrocatechuic	-	-	-	-	-	-
wanilinowy vanillic	-	-	-	-	-	-
gentyzowy gentisic	-	-	-	-	-	-
2 hydroksycynamowy 2 hydroxycinnamic	-	-	-	-	-	-
prokatechowy procatechuic	-	-	-	-	-	-
p-kumarowy p-cumaric	-	-	-	-	-	-
katechina catechin	1,493	-	0,563	-	0,932	-

„-” nie zidentyfikowano

„-” not identified

istotnych różnic w zawartości polifenoli ogółem. Ich średnia zawartość w owocach wynosiła od 102 do 141 mg%. W przypadku katechin najbardziej zasobne w ten składnik były owoce odmiany Hosui (20,5 mg%). Znacznie mniejszą ilość katechin zawierały owoce odmiany Shinseiki (6,6 mg%).

Za pomocą chromatografii gazowej oznaczono sumę kwasów fenolowych oraz procentowy udział poszczególnych kwasów występujących w owocach trzech odmian gruszy azjatyckiej (tab. 2, 3, 4). Przeprowadzone analizy wykazały, że głównymi związkami występującymi w całych owocach, miąższu i skórce były: kwas p-hydroksybenzoesowy oznaczony zarówno w postaci wolnej, jak i po hydrolizie kwaśnej i alkalicznej oraz katechiny. Całe owoce odmiany Shinseiki i Hosui zawierały także kwas cynamonowy i pyrokatechowy w postaci wolnej. Ponadto odmiana Hosui zawierała kwas p-kumarowy we wszystkich postaciach.

Kwas prokatechowy, wanilinowy i 2-hydroksycynamonowy po hydrolizie kwaśnej zidentyfikowano w całych owocach odmiany Chojuro. W miąższu i skórce owoców odmian Shinseiki i Hosui zidentyfikowano analogiczne fenolokwasy jak w całych owocach, a mianowicie: kwas cynamonowy, pyrokatechowy, p-kumarowy, prokatechowy i gentyzowy. Jedynie w przypadku odmiany Chojuro stwierdzono różnice w zawartości zidentyfikowanych fenolokwasów pomiędzy miąższem a skórką. W skórce zgromadziło się więcej tych związków niż w miąższu. Po hydrolizie kwaśnej stwierdzono w miąższu kwas prokatechowy, zaś w skórce wanilinowy, 2-hydroksycynamonowy i prokatechowy.

Wnioski

- 1) Skład gruszek azjatyckich pod względem zawartości suchej masy, ekstraktu, cukrów redukujących i kwasowości nie odbiega od składu chemicznego gruszek europejskich, powszechnie uprawianych w Polsce.
- 2) Zidentyfikowano niektóre kwasy fenolowe, pochodne kwasu benzoesowego i cynamonowego, występujące w postaci wolnej, a także w połączeniach glikozydowych. Owoce zawierały głównie kwas p-hydroksybenzoesowy i katechiny. Większą zawartość fenolokwasów zidentyfikowano w skórce niż w miąższu.
- 3) Owoce gruszy azjatyckiej stanowią mogą cenny surowiec w przetwórstwie spożywczym, ze względu na wartościowy skład chemiczny, a w szczególności zawartość kwasów organicznych, polifenoli i katechin.

Literatura

- [1] Drzazga B.: Analiza techniczna w przemyśle spożywczym. Część ogólna. WSiP, Warszawa 1999.
- [2] Hodun M., Hodun G., Czynczyk A.: Grusze azjatyckie w warunkach środkowej Polski. Roczn. AR Poznań CCCXXIII, Ogrodn., 2000, 31/2, 69-74.

- [3] Kajiura I.: Nashi (Japanese Pear). In: Horticulture in Japan, Edited by Publish. Organizing Committee XXIVth International Horticultural Congress. Asakura Co., Ltd Tokyo 1994, 40-47.
- [4] Krzaczek T.: Fenolokwasy w niektórych surowcach garbnikowych z rodziny *Rosaceae*. Farmacja Polska XL 8, Lubicz 1984.
- [5] Peri C., Pompei G.: An assay of different phenolic fractions in wines. Am. J. Enol. Vitic., 1971, 22/2, 55.
- [6] Pitera E., Odziemkowski S.: Wstępna ocena trzech odmian gruszy japońskiej. Folia Horticulturae Ann., 2001, 13/1A, 519-522.
- [7] PN-90/A-75101/03. Przetwory owocowe i warzywne. Oznaczenie zawartości suchej masy metoda wagową.
- [8] PN-90/A-75101/04. Przetwory owocowe i warzywne. Oznaczenie kwasowości ogólnej.
- [9] Rejman A.: Pomologia. Praca zbiorowa pod red. A. Rejmana. PWRiL. Warszawa 1994.
- [10] Swain T., Hillis W.E.: The phenolic constituents of *Prunus domestica* II. J. Sci. Food Agric., 1959, 10, 135.

CHEMICAL CHARACTERISTICS OF SOME SELECTED CULTIVARS OF ASIAN PEAR /*PYRUS PYRIFOLIA*/

S u m m a r y

The chemical composition of the Asian Pear fruit cultivars of Shinseiki, Hosui, and Chojuro were described. The contents of the following elements were determined: dry matter, extract, acidity reducing sugar, phenylacids, and catechins. With the use of gas chromatography, phenolic compounds were identified in the whole fruits (peel and pulp), in the pulp and the peel. It was stated that the content of directly reducing sugars in the fruits of cultivars examined differed a lot, and the quantity of directly reducing sugars (8.33%) in the Hosui cultivar was twice as high as the respective content in the Shinseiki cultivar (4.23%). Differences in the content of total extract, acidity, and catechins were found, too. The content catechins in Shinseiki pears amounted to 6.6 mg%, and the Hosui pears: 20.5 mg% of catechins. As for the content of phenol acids in the cultivars, there were no statistically significant differences stated between the cultivars investigated.

Key words: Asian pears, phenylacids, chemical compounds. ☒

JAROSŁAW KOWALIK, ANNA TARCZYŃSKA, STEFAN ZIAJKA

SZACOWANIE RYZYKA MIKROBIOLOGICZNEGO – ZASTOSOWANIE W PRODUKCJI I OBROcie ŻYWNOŚCIĄ

Streszczenie

Jakość zdrowotna żywności determinowana jest jej bezpieczeństwem i wartością żywnościową.

Wśród zagrożeń występujących w żywności najwięcej uwagi należy poświęcić zagrożeniom mikrobiologicznym, które mogą prowadzić do zachorowań, epidemii, a w drastycznych przypadkach nawet do śmierci. Działania zmierzające do ochrony zdrowia powinny być oparte na dogłębnych badaniach naukowych oraz fachowej analizie ryzyka. Identyfikacja zagrożeń i ich ocena podczas szacowania ryzyka może być wykorzystana w dalszym etapie rozwoju systemu HACCP.

Podstawy do zbudowania systemu analizy ryzyka sformułowała Komisja Codex Alimentarius, która skupia przedstawicieli rządów dyskutujących o wspólnych standardach w międzynarodowym obrocie żywnością.

Ważnym problemem przemysłu spożywczego jest szacowanie ryzyka mikrobiologicznego MRA (ang. Microbial Risk Assessment). Szacowanie ryzyka mikrobiologicznego jest zwykle prowadzone przez zespoły szacowania, których członkowie są fachowcami w dziedzinach: mikrobiologia żywności, epidemiologia, technologia żywności i rozwój produktów.

Stworzenie i stosowanie komputerowych modeli prognozowania mikrobiologicznego pomaga przewidywać zachowanie mikroorganizmów w procesach, produktach i otoczeniu. Dostępne modele oparte są na danych eksperymentalnych. Po określeniu wszystkich parametrów, obliczeniu równań regresji statystycznej oraz przeprowadzeniu walidacji, mogą być stosowane do prognozowania.

Słowa kluczowe: szacowanie ryzyka, HACCP, bezpieczeństwo żywności, mikrobiologia prognostyczna.

Wstęp

W obliczu zatruc pokarmowych oraz nowych, często trudnych do zidentyfikowania epidemii, dynamicznie zaczęła wzrastać wśród konsumentów świadomość dotycząca bezpieczeństwa żywności. Szczególnie w kilku minionych latach niepokojące były informacje dotyczące choroby szalonych krów (BSE – ang. Bovine Spongiform

Encephalopathy), afery „dioksynowej” w krajach UE czy enterotoksycznego *Escherichia coli* O157:H7 w USA i Szkocji [13].

Ochrona zdrowia ludzkiego w krajach rozwiniętych jest zagwarantowana aktami prawnymi. Podmioty wytwarzające dobra i świadczące usługi konsumentom również tym prawom podlegają. Sejm uchwalając Konstytucję Rzeczypospolitej Polskiej ustanowił, że każdy ma prawo do ochrony zdrowia (Art. 68 ust.1). Również władze publiczne chronią konsumentów, użytkowników i najemców, przed działaniami zagrażającymi zdrowiu, prywatności i bezpieczeństwu oraz przed nieuczciwymi praktykami rynkowymi. (Art. 76) [2, 14].

Bezpieczna żywność

Nad poprawą bezpieczeństwa żywności zaczęto pracować w latach 50. ubiegłego stulecia. Efektem było powstanie systemu zapewnienia bezpieczeństwa zdrowotnego żywności HACCP (Hazard Analysis and Critical Control Point) – Analiza Zagrożeń i Krytyczny Punkt Kontrolny. W systemie HACCP, zagrożenia bezpieczeństwa żywności identyfikuje się w każdym etapie produkcji. Poszczególne zagrożenia są opanowane przez monitorowanie parametrów krytycznych podczas pomiarów kontrolnych. Jednak w przypadku przekroczenia granic krytycznych należy podjąć działania korygujące [2].

Samo wdrożenie systemu HACCP nie zagwarantuje bezpieczeństwa zdrowotnego żywności, jeśli podczas procesu produkcyjnego nie będą zachowane właściwe warunki higieny. Wytyczne do zapewnienia tych warunków są opisane w zasadach GMP (Good Manufacturing Practice) – Dobrej Praktyki Produkcyjnej i GHP (Good Hygienic Practice) – Dobrej Praktyki Higienicznej. Pojęcia te są definiowane przez IFST (Institute of Food Science and Technology) – Brytyjski Instytut Nauki o Żywności i Technologii jako połączenie procedur produkcyjnych oraz kontroli zapewnienia jakości gwarantujących, że wytworzone produkty spełniają określone wymagania jakościowe. Zasady GMP są opisywane w formie tzw. Kodeksów GMP lub Kodeksów Praktyki, które zawierają wszystkie zalecenia dotyczące produkcji, jakie musi przestrzegać producent żywności, aby nie naruszyć przepisów sanitarnych obowiązujących w danym państwie [7].

Analiza ryzyka

FAO (Food and Agriculture Organization) – Światowa Organizacja ds. Rolnictwa i Wyżywienia wspólnie z WHO (World Health Organization) – Światową Organizacją Zdrowia na konferencji w Genewie w 1995 r. określiły analizę ryzyka (ang. risk analysis) jako: proces składający się z trzech składowych: oszacowania ryzyka, zarządzania ryzykiem i komunikacji ryzyka [14].

Oszacowanie ryzyka (Risk Assessment) jest to proces oparty na badaniach naukowych, składający się z następujących kroków: identyfikacji zagrożeń, charakterystyki zagrożeń, oszacowania narażenia i charakterystyki ryzyka.

Zarządzanie ryzykiem (Risk Management) jest to proces, odmienny od szacowania ryzyka, polegający na wyważonej polityce konsultacji między wszystkimi zainteresowanymi stronami, rozważającymi szacownie ryzyka i inne czynniki związane z ochroną zdrowia konsumentów i promowaniem uczciwych praktyk handlowych, mająca na celu opracowanie i wprowadzenie w życie strategii kontrolujących ryzyko.

Komunikacja ryzyka (Risk Communication) jest to wymiana informacji i opinii przez proces analizy ryzyka dotyczący zagrożeń i ryzyka oraz czynników wpływających na ryzyko, pomiędzy odpowiedzialnymi za analizę i zarządzanie ryzykiem konsumentami, przemysłem, społecznościami naukowymi oraz innymi zainteresowanymi stronami [8].

Szacowanie ryzyka mikrobiologicznego (MRA – Microbiological Risk Assessment)

Celem szacowania ryzyka mikrobiologicznego jest dostarczenie fachowcom zajmującym się ryzykiem odpowiedzi na pytania, które mogą umożliwić im podejmowanie lepszych, uzasadnionych decyzji dotyczących bezpieczeństwa żywności. W przypadku wystąpienia jakiejś niezgodności osoby odpowiedzialne za ryzyko muszą znać rozmiary tego problemu, żeby zdecydować o konieczności zastosowania środków kontrolnych do zminimalizowania tej niezgodności.

Jednostki zajmujące się ryzykiem muszą określić tolerowany i akceptowany poziom ryzyka zgodnie z zaleceniami WHO i WTO (World Trade Organization) – Światowa Organizacja Handlu. Produkt przedstawiony do importu może być odrzucony, jeśli odbiega od TLR (Tolerable Level of Risk) – Tolerowanego Poziomu Ryzyka lub Akceptowalnego Poziomu Ryzyka. TLR jest wyrażane jako roczna liczba zachorowań na 100 tysięcy ludzi, wywołanych przez czynnik chorobotwórczy zawarty w żywności. W teorii MRA będzie to niezbędne do zdecydowania czy żywność zostanie zaakceptowana do importu, czy też nie. Jeśli wyniki MRA były oszacowane niżej od TLR to żywność zostanie zaakceptowana. Jeśli wyniki szacowania ryzyka mikrobiologicznego będą wyższe niż TLR, to żywność zostanie odrzucona [2].

Jest to przeszkoda w handlu (wbrew celom WTO), zatem należało poszukać innej drogi. Zaproponowano pojęcie: Cel Bezpieczeństwa Żywności – FSO (Food Safety Objective), który ma być alternatywą dla tego problemu. Zamieniono tu „poziom chorób” na „poziom zagrożeń” [11]. FSO określa maksymalną częstotliwość występowania i/lub koncentrację zagrożeń mikrobiologicznych w żywności w momencie konsumpcji, które zapewniają właściwy poziom ochrony zdrowia [2].

Eksperti zarządzający ryzykiem muszą szukać dowodów, że proponowane FSO jest technicznie osiągalne przez realizację GHP. Jeśli FSO jest nieosiągalne, taki produkt, proces lub FSO powinny być zmodyfikowane. Zarządzający ryzykiem powinni wybrać właściwe środki kontroli do osiągnięcia zamierzonych wyników.

Środek kontrolny jest: „działaniem i czynnością, który może być zastosowany do zapobiegania bądź eliminacji zagrożeń bezpieczeństwa żywności lub ich redukcji do akceptowanego poziomu”. Środki kontrolne powinny być ustalone wg HACCP [8].

Do określania parametrów opisujących środki kontrolne stosuje się następującą terminologię:

Standard wskaźnikowy PS (Performance Standard) – poziom zagrożeń w każdym punkcie łańcucha pokarmowego. (Użycie słowa „standard” nie sugeruje jakiegoś określonego poziomu zagrożeń będącego obowiązkowym wymogiem).

Kryterium wskaźnikowe PC (Performance Criterion) – rezultat jednej czynności procesowej lub połączonych czynności (zmniejszenie lub zwiększenie poziomu mikroorganizmów lub toksyn mikrobiologicznych).

Kryterium procesowe (Process Criterion) – kontrola parametru (czas, temperatura, pH, aktywność wody) od kroku, który może być zastosowany do osiągnięcia kryterium wskaźnikowego.

Kryterium produktu (Product Criterion) – parametr żywności, który zasadniczo zapewnia, że standard wskaźnikowy i FSO są spełnione.

Kryterium mikrobiologiczne (Microbiological Criterion) – akceptowalność produktu oparta na nieobecności lub obecności mikroorganizmów, włączając pasożyty i ich toksyny/metabolity na jednostkę masy, objętości lub partii [2].

Wstępną fazą zarządzania ryzykiem jest ustalenie ryzyka lub standardu mikrobiologicznego (wskaźnikowego). Codex Alimentarius [5] opisuje jakie kryteria mikrobiologiczne powinny być ustanawiane i stosowane:

- bilans dotyczący mikroorganizmów i ich toksyn, metabolitów i wyciągnięcie wniosków,
- analityczne metody ich wykrywania i klasyfikacji,
- plan definiujący liczbę pobieranych próbek i rozmiar jednostki analitycznej,
- granice mikrobiologiczne brane pod uwagę w zależności od rodzaju żywności w specyficznych punktach łańcucha pokarmowego,
- liczba analitycznych jednostek, które powinno się dostosować do tych granic,

Przy podejmowaniu decyzji dotyczącej danego produktu, w związku z ustalaniem kryterium mikrobiologicznego i jego rodzaju, należy rozpatrzyć:

- ewidencje aktualnych i potencjalnych zagrożeń dla zdrowia (ewidencja epidemiologiczna lub rezultaty MRA),
- jakość mikrobiologiczna surowca,
- skutki trwania procesu,

- prawdopodobieństwo i skutki zanieczyszczeń wtórnych podczas produkcji, przechowywania i spożywania,
- kategorie konsumentów w odniesieniu do ryzyka,
- koszty.

Codex Alimentarius [6] podaje również ogólne zasady mikrobiologicznego szacowania ryzyka:

- mikrobiologiczne oszacowanie ryzyka powinno mieć podstawy naukowe,
- należy rozróżnić pojęcia: oszacowanie ryzyka i zarządzanie ryzykiem,
- MRA powinno zostać przeprowadzone według następującej kolejności: identyfikacja zagrożenia, oszacowanie zagrożenia, oszacowanie narażenia i charakterystyka ryzyka,
- MRA powinno wyraźnie określać cel i metodykę badań,
- cele i zasady MRA powinny być jasno sformułowane,
- wszelkie utrudnienia, takie jak: koszty, czas badań muszą być określone i konsekwentnie opisane,
- nieprawidłowości wykazane podczas MRA wymagają rejestracji i opisu,
- wszystkie dane powinny być gromadzone w celu zminimalizowania powstałych w procesie MRA nieprawidłowości,
- MRA powinno uwzględniać dynamikę wzrostu, przeżywalność oraz inaktywację mikroorganizmów w żywności oraz szereg powiązań między ludźmi a skutkami konsumpcji, z ewentualną możliwością ich rozprzestrzenienia,
- dane pochodzące z procesu oszacowania ryzyka należy porównać z niezależnymi informacjami o zachorowalności ludzi,
- należy powtarzać MRA w celu uaktualniania zgromadzonych danych.

Są to bardzo ogólne rozważania stosowane do całej żywności. Zajmując się określoną żywnością, muszą być podjęte decyzje, jakie kryteria będą stosowane w łańcuchu pokarmowym i co osiągniemy przez ich stosowanie [2, 5].

Należy ustalić ryzyko wystąpienia zagrożenia lub czynnika, który może negatywnie wpłynąć na populację. W przypadku mikrobiologicznego bezpieczeństwa żywności, skupia się to głównie na zdolności patogenów do zakażenia produktów lub powodowania chorób [7].

Szacowanie ryzyka mikrobiologicznego składa się z czterech etapów:

1. Identyfikacja zagrożeń, polegająca na odnalezieniu znanych i potencjalnych skutków dla zdrowia związanych z określonym czynnikiem. Proces ten można wyrazić w 2 składowych: dotyczących ekologii i epidemiologii.

Ekologia sprowadza się do określenia mikroorganizmów występujących w surowcach, w czasie produkcji, przechowywania, dystrybucji itp.

Epidemiologia natomiast określa rodzaj i częstotliwość zatruć pokarmowych związanych z danym rodzajem żywności.

2. Oszacowanie zagrożeń, polegające na ilościowym i/lub jakościowym określeniu natury niekorzystnych efektów związanych z czynnikiem biologicznym mogącym wystąpić w żywności.
3. Oszacowanie narażenia, tzw. „określenie ekspozycji”, które określa jakościowy i ilościowy stopień narażenia na czynniki, które mogą wystąpić. W przypadku zagrożeń mikrobiologicznych głównym problemem jest określenie liczby mikroorganizmów, jaką można spożyć w jednej porcji żywności bez konsekwencji zdrowotnych, a więc określenie liczby mikroorganizmów w żywności.
4. Charakterystyka ryzyka, która obejmuje zebranie wszystkich danych z poprzednich etapów. Przedstawione jest jako rozkład prawdopodobieństwa oszacowanego narażenia [9].

Narzędzia do szacowania ryzyka mikrobiologicznego mogą być podzielone na dwie grupy:

- jakościowe narzędzia dotyczące szacowania ryzyka w sposób opisowy,
- ilościowe narzędzia dotyczące liczbowego prognozowania ryzyka.

Jakościowe podejmowanie decyzji może pomóc fachowcom zdecydować, których organizmów mamy się obawiać, jakie są ich cechy i zachowanie. Jakościowa interpretacja ryzyka polega na heurystycznej znajomości. Wiedza heurystyczna istnieje w formie faktów i opinii ekspertów.

Ilościowe narzędzia pomagają obliczyć i oszacować zakres ryzyka. Można je podzielić na narzędzia do dopasowywania wartości i narzędzia oparte na ilościowych modelach prawdopodobieństwa, gdzie rezultaty są prawdopodobieństwami i rozkładami ryzyka.

Obecnie dostępnych jest stosunkowo niewiele centralnych zasobów informacji dotyczących szacowania ryzyka. Wiele informacji jest dystrybuowanych poprzez indywidualnych ekspertów organizacji, artykuły prasowe, prace konferencyjne, książki i internet [2].

Modele prognostyczne

Przewidywanie rozwoju, przeżywalności lub inaktywacji mikroorganizmów w produktach spożywczych może być ułatwione przez opracowywanie modeli matematycznych. Określenie reakcji mikroorganizmów na czynniki wpływające na wzrost drobnoustrojów w żywności umożliwia przewidywanie ich zachowania w żywności na podstawie wykonanych w przeszłości badań [3, 10].

W Polsce, subdyscypliną mikrobiologii żywności, jaką jest „mikrobiologia prognostyczna” zajmuje się od wielu lat prof. dr hab. D. Kołożyn-Krajewska z Zakładu

Technologii Gastronomicznej i Higieny Żywności Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie.

Dokładność i różnorodność prognozowania zależy od jak najlepszego dopasowania modelu, rozpoznania specyfiki żywności i walidacji wyników analiz mikrobiologicznych danego produktu [4]. Mikrobiologiczne modele prognostyczne mogą być bardzo przydatne przy opracowywaniu parametrów procesów zapobiegających rozwojowi drobnoustrojów i oszacowaniu ryzyka z nim związanego, tak aby można było wcześniej podejmować właściwe kroki w celu wyeliminowania zagrożenia [1]. Mikrobiologia prognostyczna, wywodząca się z mikrobiologii żywności, nabrała znaczącej naukowej rangi w ostatnich latach. Posługuje się ona takimi dziedzinami nauki, jak: matematyka, technologia, chemia i mikrobiologia, które dają możliwość przewidywania zachowań mikroorganizmów w żywności, w danych warunkach [17].

Modele prognostyczne klasyfikuje się według kilku różnych schematów. Obecnie najbardziej znany jest podział zaproponowany przez Whitinga i Buchanana [3]. Pogrupowali oni modele na I-, II- i III- rzędowe.

Model pierwszorzędowy tzw. statyczny opisuje kinetyczne parametry mikroorganizmów przy ustalonych, niezmiennych warunkach otoczenia (np. jedna ustalona wartość temperatury przy wzroście mikroorganizmów w czasie). Statycznych modeli nie bierze się pod uwagę przy zmianach parametrów otoczenia, takich jak np. temperatura [2].

Model drugorzędowy tzw. dynamiczny odnosi się do zmian warunków otoczenia (np. pH, aktywność wody, stężenie kwasów organicznych) i kinetycznych parametrów mikroorganizmów. Zmiany w mikrobiologicznym zachowaniu są np. monitorowane przez kontrolę temperatury.

Model trzeciorzędowy opisuje włączenie modeli I- i II- rzędowych do użytecznych pakietów programów komputerowych. Modele te są włączone w różnych funkcjach integratorów tj. temperatura, aktywność wody lub pH. Użytkownicy tych programów komputerowych nie muszą być świadomi technik modelowania, niekonieczne jest dla nich podpieranie się modelami I- czy II- rzędowymi. Modele trzeciorzędowe czynią mikrobiologię prognostyczną łatwym i dostępnym narzędziem we wszystkich obszarach przemysłu spożywczego [16].

Wśród narzędzi, które służą do projektowania, prognozowania i walidacji wyników wyróżnia się:

- Wspieranie podejmowania decyzji przy identyfikacji zagrożeń (mogą to być np. drzewka decyzyjne umożliwiające przedstawienie skonstruowanego szeregu pytań związanych z istotą podejmowanych decyzji).
- Pakiety, które mogą być użyte do rozwoju modelu i walidacji (modele statystyczne, specjalnie zaprojektowane do pomocy w kreowaniu modeli prognostycznych, np. zaproponowany przez IFR (Institute of Food Research) – Instytut Badawczy

Żywności w Wielkiej Brytanii. Są to Microfit i DMFIT. Obydwa pomagają w dopasowaniu, kreśleniu i analizowaniu krzywej wzrostu z danych mikrobiologicznych.

- Gotowe modele (należy tu wymienić program komputerowy Pathogen Modelling Program, opracowany przez Amerykański Departament Rolnictwa, w formie pokazowej dostępny bezpłatnie przez internet. Po wyborze określonego patogenu przy uwzględnieniu takich parametrów, jak: temperatura, pH, aktywność wody możemy obliczyć czas wzrostu i czas redukcji, a wyniki przedstawić na wykresie lub w tabeli.

Metody impedymetryczne w badaniach mikrobiologicznych

W analizach mikrobiologicznych wykorzystuje się metody impedymetryczne.

Impedancja jest opornością przepływu prądu zmiennego przez przewodzącą pożywkę.

Zasada oparta jest na wykorzystaniu zjawiska zmiany przewodności elektrycznej układu, jaki stanowi pożywka hodowlana wraz z mikroorganizmami wniesionymi z badanym materiałem.

Żywe komórki w czasie wzrostu i namnażania powodują zmianę składu pożywki, przekształcając słabo zdysocjowane lub niezdisocjowane związki wielkocząsteczkowe (polisacharydy, tłuszcze, białka) w dobrze dysocjujące związki o mniejszej masie molekularnej, takie jak kwasy organiczne, kwasy tłuszczowe, aminokwasy. Nagromadzenie produktów metabolizmu powoduje obniżenie oporu medium w czasie przepływu prądu elektrycznego pomiędzy elektrodami zanurzonymi w hodowli mikroorganizmów, co zostaje zarejestrowane przez układ pomiarowy. Pomiar zmiany impedancji pożywki może służyć jako narzędzie do wykrywania obecności drobnoustrojów lub ich aktywności metabolicznej. Ogromną zaletą metody impedymetrycznej jest to, że można równocześnie analizować wiele prób, a także znacznie krótszy czas trwania w porównaniu z metodami tradycyjnymi, oszczędność materiałów i automatyczna interpretacja wyników [11, 12].

Po dokonaniu kalibracji w odniesieniu do konwencjonalnej metody płytkowej urządzenie impedymetryczne wykorzystywane jest do opracowywania modeli prognostycznych pomagając w analizie wzrostu mikroorganizmów.

Podsumowanie

Szacowanie ryzyka mikrobiologicznego staje się samodzielną dyscypliną naukową. Faktem jest, że jej rozwój następuje wraz z doskonaleniem technik analiz mikrobiologicznych i programów komputerowych. Od dobrej współpracy międzynarodowej (wymiany informacji, gromadzenia danych, konsultacji i wspólnych analiz wyników)

zależać będzie postęp działań w kierunku rozwiązywania problemów związanych z bezpieczeństwem żywności.

Literatura

- [1] Bourgeois C.M.: Quality and safety assurance. *Eur. Food Drink Rev.*, 1997, **9**, 65.
- [2] Brown M., Stringen M.: Microbiological risk assessment in food processing. Woodhead Publishing Limited, Cambridge 2002.
- [3] Buchanan R.L.: Predictive food microbiology: Trends *Food Sci. Technol.*, 1993, **4**, 1-6.
- [4] Buchanan R., Whiting R.C.: Risk assessment and predictive microbiology. *J. Food Prot.*, 1996, Supplement, 31-36.
- [5] Codex Alimentarius Commission: Principles for the Establishment and Application of Microbiological Criteria for Foods. CAC/GL-21, FAO 1997.
- [6] Codex Alimentarius Commission: Principles and Guidelines for the Conduct of Microbiological Risk Assessment. CAC/GL-30, FAO/WHO 2001.
- [7] Dzwolak W., Sztejn J., Ziąja S.: Warunki wstępne wdrażania systemu HACCP w przemyśle mleczarskim. FAPA, Warszawa 2000.
- [8] McNab B.: Risk Assessment Frameworks - Basics Principles of Risk Analysis and Decision Analysis. http://www.foodriskclearinghouse.umd.edu/risk_analysis.cfm, 2003-15-08.
- [9] Kołożyn-Krajewska D. (red.): Higiena produkcji żywności. Wyd. SGGW, Warszawa 2001.
- [10] Kołożyn-Krajewska D., M. Jałosińska-Pieńkowska, Prognozowanie mikrobiologiczne jako narzędzie kształtowania bezpieczeństwa żywności: *Przem Spoż.*, 2003, **2**, 32-34.
- [11] Kunicka A., Wykorzystanie metody impedymetrycznej w analizie mikrobiologicznej: *Laboratoria. Aparatura. Badania*, 2000, **5**, 18-21.
- [12] *Mikrobiologia techniczna*, pod red. Libudzisz Z. i Kowal K. Wyd. PŁ, Łódź 2000.
- [13] McDonald K., Da-Wen Sun: Predictive food microbiology for the meat industry a review. *Int. J. Food Microbiol.* 1999, **52**, 1-27.
- [14] Tyszkiewicz S.: Zasady analizy ryzyka i zasady ostrożności w prawie żywnościowym. *Żywność. Nauka. Technol. Jakość*, 2000, **1 (22)**, 5-17.
- [15] Van Schothorst M.: Principles for the establishment of microbiological food safety objectives and related control measures. *Food Control*, 1998, **9**, 379-387.
- [16] Whiting R.C.: Microbial modeling in foods. *Food Sci. Nutr.*, 1995, **35**, 467-494.
- [17] Zwietering M., de Koos J., Hasenack B., de Wit J., van't Riet K.: Modelling of the bacterial growth curve. *Appl. Envir. Biol.*, 1991, **57**, 1094-1101.

THE APPLICATION OF MICROBIAL RISK ASSESSMENT IN FOOD PRODUCTION AND FOOD TRADE

Summary

Health quality of foods is determined by their safety and nutrition quality.

Among the hazards appearing in food, the microbial hazard is the one deserving the highest and close attention, because it can result in diseases, epidemics, and, in some serious cases, even in death. Health protection activities should be based on detailed researches and professional risk analysis.

The identification of various risks and their estimation during a risk assessment procedure can be applied in an advanced phase of the entire development of the HACCP system.

The 'Codex Alimentarius' Commission founded a basis for the risk analysis system. A microbial risk assessment (MRA) constitutes an important issue within the food industry. Special assessment units usually conduct a microbial risk assessment and their members are professionals specialized in the following domains: food microbiology, epidemiology, food technology, and product development.

Computer developed models of microbiological forecasts models appear very useful and supportive while predicting behaviors of microorganisms in ongoing processes, in products, and in the environment.

The majority of models available are empirical ones based on experimental data. As soon as all necessary parameters are determined, statistic regression equations are calculated, and the validation is successfully completed, a developed computer forecast model can be used to make due forecasts.

Key words: risk assessment, HACCP, food safety, predictive microbiology. ☒

JOLANTA KOWALSKA

WPLYW POWLEKANIA NA WŁAŚCIWOŚCI FIZYCZNE AGLOMEROWANEGO SPROSZKOWANEGO NAPOJU KAKAOWEGO

Streszczenie

Celem pracy była analiza wpływu przestrzennego rozmieszczenia składników sproszkowanego napoju kakaowego, z uwzględnieniem zmiany ilości składników oraz rodzaju substancji powlekającej na jego właściwości ogólne.

Materiał do badań stanowiły mieszaniny następujących surowców: cukru, kakao, maltodekstryny i mleka. Podstawowy skład mieszanin obejmował: 20% kakao; 0, 40, 80% cukru; 0, 40, 80% maltodekstryny oraz 0, 40, 80% mleka w proszku, które poddano aglomeracji wodą, a następnie powlekaniu. Przed procesem aglomeracji z każdej z mieszanin odejmowano 20% jednego ze składników, który wprowadzono w postaci roztworu powlekającego do zaglomerowanej mieszaniny, zachowując jej wyjściowy skład i jednocześnie wytwarzając powłokę wokół cząstek produktu. W materiale badawczym analizowano: skład granulometryczny, zawartość i aktywność wody, gęstość nasypową luźną i utrzoną, sypkość, kąt zsypu z różnych powierzchni, kąt nasypu, a także właściwości rekonstrycyjne – zwilżalność i rozpuszczalność.

Powlekanie spowodowało duże zróżnicowanie właściwości ogólnych aglomerowanego sproszkowanego napoju kakaowego, a stopień wpływu był zależny od składu produktu i rodzaju substancji powlekającej. Wykazano polepszenie właściwości ogólnych produktów powleczonych roztworem cukru, natomiast powłoka wytworzona z kakao, maltodekstryny lub mleka w proszku nie powodowała istotnych zmian analizowanych właściwości.

Słowa kluczowe: sproszkowany napój kakaowy, aglomeracja, powlekanie.

Wprowadzenie

Sypka forma proszków spożywczych otrzymanych różnymi metodami i wszystkie cechy związane z tym stanem: wielkość cząstek, gęstość nasypowa, sypkość, higroskopijność i właściwości rekonstrycyjne są jednymi z zagadnień, jakimi zajmuje się technologia żywności. Drobnziarniste proszki są uciążliwe w stosowaniu, a znajomość ich właściwości fizycznych pozwala na ocenę jakości produktu [1].

Przechowywanie materiałów sypkich lub ich transport napotyka na trudności wywołane niekorzystnymi zmianami, takimi jak: pylistość czy segregacja podczas napełniania lub opróżniania zbiorników [5]. Produkty w proszku cechują się również wysoką higroskopijnością w kontakcie z wilgotnym powietrzem, czego konsekwencją jest pogorszenie sypkości i powstawanie zbryleń. Niekorzystne zmiany zachodzące w produktach sypkich można ograniczyć lub im zapobiec stosując proces aglomeracji oraz powlekania.

Zwiększenie rozmiaru cząstek i zmiana składu granulometrycznego uzyskane w wyniku aglomeracji umożliwiają nadanie produktom w proszku cech korzystnych z punktu widzenia jakości żywności [6].

Proces mikrokapsułkowania polega na zamykaniu, pakowaniu lub otaczaniu cząstek określonego związku w otoczki tworzące się w czasie procesu z jednej lub kilku dodatkowych substancji [3, 4]. Zastosowanie powłok pozwala na kontrolę przepuszczalności tlenu, dwutlenku węgla, pary wodnej oraz elektrolitów.

Celem pracy była analiza wpływu powlekania sproszkowanego napoju kakaowego na jego wybrane właściwości fizyczne.

Material i metody badań

Materiał badawczy stanowiły aglomerowane mieszaniny, których podstawowy skład obejmował: 20% kakao + 80% cukru, 20% kakao + 40% cukru + 40% maltodekstryny, 20% kakao + 80% maltodekstryny, 20% kakao + 40% cukru + 40% mleka w proszku, 20% kakao + 80% mleka w proszku. Masa mieszaniny stanowiącej materiał badawczy wynosiła 500 g. Mieszanie składników, aglomerację wodą oraz powlekanie przeprowadzano w aglomeratorze fluidalnym Fluid Bed Laboratory STREA – 1. Przed procesem aglomeracji i powlekania odejmowano 20% jednego ze składników (w odniesieniu do jego masy w mieszaninie), który wprowadzano w postaci roztworu powlekającego do zaglomerowanej mieszaniny, zachowując jej wyjściowy skład i jednocześnie wytwarzając powłokę wokół cząstek produktu. W przypadku aglomeratów zawierających 20% kakao oraz 80% cukru, maltodekstryny lub mleka w proszku, ilość składnika przeznaczonego do powlekania stanowiła w odniesieniu do masy mieszaniny odpowiednio: kakao – 4%, cukier, maltodekstryna lub mleko w proszku – 16%. Z produktów kakaowych o składzie 20% kakao, 40% cukru oraz 40% maltodekstryny lub mleka w proszku przed aglomeracją odejmowano: kakao – 4%, cukier, maltodekstryna lub mleko w proszku – po 8% w odniesieniu do całkowitej masy mieszaniny, a następnie przygotowywano roztwory o stężeniu: kakao – 25%, cukru, maltodekstryny i mleka – 50%.

W części eksperymentów podjęto próbę określenia wpływu ilości składnika zastosowanego do powlekania na badane właściwości ogólne. Dlatego do mieszaniny zawierającej 20% kakao + 80% cukru zastosowano 10, 20 lub 30% składnika do po-

wlekania, co w przeliczeniu na udział w całkowitej masie mieszaniny stanowiło odpowiednio: 8, 16 i 24% – cukier, 2, 4 i 6% – kakao.

Analiza właściwości fizycznych obejmowała: skład granulometryczny [7], zawartość wody [8] i aktywność wody [2], gęstość nasypową luźną i utrzesioną [10], sypkość, kąt zsypania z różnych powierzchni, kąt nasypu [11], a także właściwości rekonstrukcyjne – zwilżalność [2] i rozpuszczalność [9] aglomeratów powleczonych. Oznaczone wielkości w praktyce określane są jako właściwości ogólne żywności w proszku. Do wyznaczania rozkładu cząstek zastosowano również syntetyczny wskaźnik liczbowy, charakteryzujący wielkość ziaren, jakim jest mediana. Wszystkie oznaczenia wykonywano w co najmniej trzech powtórzeniach.

Wyniki i ich omówienie

Zwiększenie ilości cukru w roztworze stosowanym do powlekania aglomeratu o standardowym składzie 20% kakao + 80% cukru wpłynęło na wzrost średnicy cząstek sproszkowanego napoju. Wartość mediany składu granulometrycznego po zastosowaniu 10, 20 lub 30% cukru do powlekania wynosiła odpowiednio 0,41; 0,55 oraz 0,63 mm. Zbliżone wartości uzyskano w przypadku aglomeratu powlekanego roztworem kakao (tab. 1).

Powlekanie roztworem cukru lub kakao wpłynęło również na wzrost średnicy cząstek aglomeratu zawierającego w składzie 20% kakao + 40% cukru + 40% maltodekstryny (tab. 2). Wartość mediany średnicy cząstek sproszkowanego napoju powleczonego roztworem cukru wzrosła o ponad 48%, natomiast powłoka z kakao spowodowała ponad 18% wzrost średnicy cząstek w odniesieniu do aglomeratu niepowleczonego. Zastosowanie maltodekstryny do powlekania wpłynęło na obniżenie wartości środkowej średnicy ziaren do 0,23 mm.

W przypadku sproszkowanego napoju zawierającego 80% maltodekstryny nie uzyskano istotnego wpływu powlekania roztworem kakao i maltodekstryny na skład granulometryczny, a wartości mediany były na zbliżonym poziomie (tab. 3).

Aglomerat sproszkowanego napoju kakaowego 20% kakao + 40% cukru + 40% mleka w proszku był powlekany roztworem cukru, kakao i mleka. Wartość środkowa średnicy ziaren wskazała na największy udział cząstek drobnych aglomeratu powleczonego roztworem cukru, natomiast w przypadku produktów powleczonych roztworem kakao lub mleka w proszku wartość mediany była na zbliżonym poziomie (tab. 4).

Najmniej istotny wpływ powlekania otrzymano w odniesieniu do sproszkowanego napoju 20% kakao + 80% mleka w proszku (tab. 5), co potwierdziła wartość środkowa – mediana.

Przeprowadzono także analizę wpływu powlekania na aktywność i zawartość wody.

Tabela 1

Właściwości fizyczne powlekanego, sproszkowanego napoju kakaowego (skład 20% kakao + 80% cukru).
Physical properties of a of a coated cocoa powder drink (composition: 20% cocoa + 80% sugar).

Wyróżniki fizyczne Physical properties	Aglomerat niepowleczony uncoated agglomerate	Aglomerat powleczony roztworem Agglomerate coated with a solution of					
		Cukru / Sugar			Kakao / Cocoa		
		10%	20%	30%	10%	20%	30%
Mediana / Median [mm]	-	-	-	-	0,43	0,55	0,66
Aktywność wody Water activity	0,11	0,18	0,14	0,14	0,31	0,32	0,32
Zawartość wody Water content [%]	1,70	1,83	1,46	1,08	0,66	0,93	0,94
Gęstość nasypowa luźna/ Powder Density of loose cocoa powder [kg/m ³]	757,6	735,3	681,2	591,7	757,6	609,8	561,8
Gęstość nasypowa utrząsiona / Powder Density of tapped cocoa powder [kg/m ³]	925,9	892,9	770,9	671,1	826,5	714,3	632,9
Sypkość / Friability [s]	-	-	-	-	13	14,5	16
Kąt zsyphu z powierzchni metalowej / Angle of repose on metallic surface [°]	20	15	12	10	20	20	22
Kąt zsyphu z powierzchni szklanej / Angle of repose on glass surface [°]	23	20	16	15	25	25	25
Kąt nasypu Pilling angle [°]	35,0	33,8	30,3	29,1	39,2	40	41,8
Zwilżalność Wettability [s]	-	-	-	-	84	120	150
Rozpuszczalność Solubility [%]	95,8	95,7	96,8	98,2	93	91	90

Tabela 2

Właściwości fizyczne powlekanego, sproszkowanego napoju kakaowego (skład 20% kakao + 40% cukru + 40% maltodekstryny).

Physical properties of a coated cocoa powder drink (composition: 20% cocoa + 40% sugar + 40% maltodextrin).

Wyróżniki fizyczne Physical properties	Aglomerat nie- powleczony Uncoated Agglomerate	Aglomerat po- wleczony roz- tworem cukru Agglomerate coated with sugar	Aglomerat po- wleczony roz- tworem kakao Agglomerate coated with cocoa	Aglomerat po- wleczony roz- tworem malto- dekstryny Agglomerate coated with maltodextrin
Aktywność wody Water activity	0,21	0,18	0,18	0,28
Zawartość wody Water content [%]	4,18	2,5	3,9	3,2
Gęstość nasypowa luźna Powder Density of loose cocoa powder [kg/m ³]	500,0	512,8	476,2	537,6
Gęstość nasypowa utrę- siona / Powder Density of tapped cocoa powder [kg/m ³]	609,8	632,9	595,2	675,7
Kąt zsypania z powierzchni metalowej / Angle of repose on metallic surfa- ce [°]	32	26	35	29
Kąt zsypania z powierzchni szklanej / Angle of repose on glass surface [°]	38	32	39	35
Kąt nasypu Pilling angle [°]	41	37	40,5	35
Rozpuszczalność Solubility [%]	92	94	83	90

Tabela 3

Właściwości fizyczne powlekanego, sproszkowanego napoju kakaowego (skład 20% kakao + 80% maltodekstryny).

Physical properties of a coated cocoa powder drink (composition: 20% cocoa + 80% maltodextrin).

Wyróżniki fizyczne Physical properties	Aglomerat niepowlczony Uncoated Agglomerate	Aglomerat powlczony roztworem Agglomerate coated with	
		Kakao Cocoa	Maltodekstryny Maltodextrin
Mediana / Median [mm]	0,21	0,29	0,20
Aktywność wody / Water activity	0,39	0,45	0,34
Zawartość wody / Water content [%]	5,5	3,5	5,3
Gęstość nasypowa luźna Powder Density of loose product [kg/m ³]	400,0	413,2	380,1
Gęstość nasypowa utrzęsiona Powder Density of tapped product [kg/m ³]	512,8	517,6	478,0
Sypkość / Friability [s]	24	32	29
Kąt zsypania z powierzchni metalowej Angle of repose on metallic surface [°]	38	40	32
Kąt zsypania z powierzchni szklanej Angle pf repose on glass surface [°]	44	46	37
Kąt nasypu / Pilling angle [°]	44,7	46	44
Zwilżalność / Wettability, [s]	38	54	47
Rozpuszczalność / Solubility [%]	87	80,5	85

W przypadku aglomeratu o standardowym składzie określono również wpływ ilości substancji powlekającej na badane parametry.

Powlekanie roztworem cukru cząstek aglomeratu o składzie 20% kakao + 80% cukru wpłynęło w istotny sposób na aktywność wody (tab. 1). Wprowadzenie 10% cukru na powierzchnię spowodowało wzrost aktywności wody o około 64%, natomiast 20% i 30% cukru zwiększyło a_w o około 27%.

Zastosowanie kakao do powlekania spowodowało prawie trzykrotny wzrost aktywności wody, ale nie zaobserwowano wpływu ilości substancji powlekającej (tab. 1).

Proszek napoju kakaowego zawierający w składzie 40% maltodekstryny powlecano trzema roztworami. Zastosowanie powłoki z cukru lub kakao wpłynęło na obniżenie aktywności wody o około 14% (tab. 2), natomiast roztwór maltodekstryny podwyższył a_w o około 33% w porównaniu do aglomeratu niepowlczonego. W przypadku aglomeratu o składzie 20% kakao + 80% maltodekstryny zastosowanie powłoki z kakao wpłynęło na wzrost aktywności wody, natomiast powłoki z maltodekstryny na obniżenie a_w o około 13% (tab. 3).

Tabela 4

Właściwości fizyczne powlekanego, sproszkowanego napoju kakaowego (skład 20% kakao + 40% cukru + 40% mleka).

Physical properties of a powdered cocoa product coated with sugar or of a cocoa solution (composition: 20% cocoa + 40% sugar + 40% milk).

Wyróżniki fizyczne Physical properties	Aglomerat niepowle- czony Uncoated agglomerate	Aglomerat powleczony roztworem Agglomerate coated with		
		Cukru Sugar	Kakao Cocoa	Mleka Milk
Mediana / Median [mm]	0,47	0,43	0,32	0,45
Aktywność wody / Water activity	0,14	0,10	0,34	0,25
Zawartość wody / Water content [%]	4,8	3,0	4,1	4,8
Gęstość nasypowa luźna Powder Density of loose product [kg/m ³]	450,4	476,2	431,0	468,2
Gęstość nasypowa utrzęsiona Powder Density of tapped product [kg/m ³]	531,9	558,7	502,5	541,0
Sypkość / Friability [s]	21	17	24	37
Kąt zsypania z powierzchni metalowej Angle of repose on metallic surface [°]	0	30	35	34
Kąt zsypania z powierzchni szklanej Angle of repose on glass surface [°]	40	35	48	46
Kąt nasypu / Pilling angle [°]	36	38	48	52
Zwilżalność / Wettability [s]	55	22	78	85
Rozpuszczalność / Solubility [%]	75	78	72	82

Aglomerat o składzie 20% kakao + 40% cukru + 40% mleka w proszku powleczony roztworem cukru wykazał aktywność wody niższą o około 28% od wartości charakteryzującej aglomerat niepowleczony (tab. 4). Aktywność wody produktu powlezonego roztworem kakao wzrosła około 2,5-krotnie, natomiast zastosowanie powłoki z mleka wpłynęło na podwyższenie a_w o ponad 44%.

Istotny wpływ powlekania wykazano także w przypadku mieszaniny zawierającej w składzie 80% mleka. Po zastosowaniu powłoki z kakao a_w osiągnęła wartość około dwukrotnie wyższą, natomiast po zastosowaniu powłoki z mleka o około 63% wyższą w porównaniu z aglomeratem niepowleczonym o tym samym składzie (tab. 5).

Powlekanie wpłynęło na zmiany gęstości nasypowej, a stopień wpływu był bardziej uzależniony od składu chemicznego niż rodzaju zastosowanej powłoki. Powlekanie roztworem cukru i kakao mieszaniny aglomeratu o standardowym składzie wpłynęło na obniżenie gęstości nasypowej [tab. 1]. Im więcej zastosowano roztworu powlekającego, tym gęstość nasypowa była niższa. W przypadku powłoki z cukru, jak i kakao, w ilości 10% ich masy nie otrzymano istotnego wpływu powlekania na

kakao, w ilości 10% **ich masy** nie otrzymano istotnego wpływu powlekania na gęstość nasypową. Natomiast **zwiększanie** ilości substancji powlekającej do 20 lub 30% spowodowało różnice gęstości nasypowej od 17% do 37% w porównaniu z aglomeratem niepowleczonym (tab. 1).

Tabela 5

Właściwości fizyczne powlekanego, sproszkowanego napoju kakaowego (skład 20% kakao + 80% mleka).
Physical properties of a powdered cocoa product coated with sugar or of a cocoa solution (composition: 20% cocoa + 80% milk).

Wyróżniki fizyczne Physical properties	Aglomerat niepowleczony Uncoated agglomerate	Aglomerat powleczony roztworem Agglomerate coated with	
		Kakao Cocoa	Mleko Milk
Mediana / Median [mm]	0,39	0,43	0,39
Aktywność wody / Water activity	0,19	0,37	0,31
Zawartość wody / Water content [%]	4,11	5,5	5,19
Gęstość nasypowa luźna Powder Density of loose product [kg/m ³]	460,8	497,5	445,4
Gęstość nasypowa utręszona Powder Density of tapped product [kg/m ³]	632,9	652,6	617,3
Sypkość / Friability [s]	121	138	152
Kąt zsypu z powierzchni metalowej Angle of repose on metallic surface [°]	40	42	43
Kąt zsypu z powierzchni szklanej Angle of repose on glass surface [°]	47	50	52
Kąt nasypu / Pilling angle [°]	41	46	57
Zwilżalność / Wettability [s]	68	145	180
Rozpuszczalność / Solubility [%]	69	66	74

Analiza gęstości nasypowej aglomeratu niepowlezonego i powlezonego o składzie 20% kakao + 40% cukru + 40% maltodekstryny nie wykazała istotnych różnic (tab. 2). Zanotowano **jedynie** tendencje do wzrostu badanej wielkości po zastosowaniu powłoki z cukru lub maltodekstryny oraz obniżenia gęstości aglomeratu powlezonego roztworem kakao. **Brak** istotnego wpływu zaobserwowano również w odniesieniu do aglomeratu 20% kakao + 80% maltodekstryny, którego powlekanie nie spowodowało istotnych różnic gęstości nasypowej w porównaniu z aglomeratem niepowleczonym (tab. 3).

Brak istotnego wpływu powlekania na gęstość nasypową stwierdzono również w badaniach sproszkowanych napojów zawierających w składzie 40% lub 80% mleka w proszku (tab. 4, 5).

W przypadku aglomeratów zawierających w składzie maltodekstrynę lub mleko w proszku zastosowanie powłok z cukru, kakao, maltodekstryny lub mleka w proszku wykazało zbliżone tendencje wpływu powlekania na gęstość nasypową.

Analiza sypkości aglomeratu o składzie 20% kakao +80% cukru wykazała wpływ powlekania i ilości substancji powlekającej na badany parametr. Czas wysypu mieszanki powleczonej roztworem cukru w ilości 20 lub 30% z obracającego się naczynia (sykłość) był krótszy odpowiednio o około 20 oraz 28% w porównaniu z aglomeratem niepowleczonym. Natomiast zwiększanie ilości kakao na powierzchni aglomeratu do 20 oraz 30% spowodowało wydłużenie czasu wysypu o około 16 i 28%. Nie uzyskano natomiast wpływu powlekania roztworem kakao w ilości 10% (tab. 1).

Zdolność do płynięcia przez aglomeraty powleczone roztworami cukru lub kakao w ilościach 10, 20 lub 30% została potwierdzona analizą kąta zsypania i nasypu (tab. 1). Wykazano polepszenie sypkości mieszanin powleczonych roztworem cukru oraz brak istotnego wpływu po zastosowaniu powłoki z kakao w porównaniu z aglomeratami niepowleczonymi.

Podobne zależności otrzymano w przypadku aglomeratów zawierających w składzie maltodekstrynę lub mleko w proszku. Zastosowanie powłoki z cukru wpłynęło na polepszenie sypkości, natomiast powłoka z kakao, maltodekstryny lub mleka w większości przypadków pogarszała tę właściwość (tab. 2–5).

Aglomerat zawierający w składzie 20% kakao + 40% cukru + 40% maltodekstryny i powleczony roztworem cukru odznaczał się czasem wysypu krótszym o około 31% w stosunku do aglomeratu niepowlezonego (tab. 2). Natomiast zastosowanie powłoki z maltodekstryny spowodowało wydłużenie czasu wysypu o około 44%. Powlekanie roztworem kakao nie wpłynęło na sykłość.

Badania aglomeratu zawierającego w składzie 80% maltodekstryny zarówno po zastosowaniu powłoki z kakao, jak i maltodekstryny wpłynęło na istotne pogorszenie zdolności do płynięcia (tab. 3).

Aglomeraty zawierające w składzie mleko w proszku, powleczone roztworem kakao lub mleka, wykazały dłuższy czas wysypu (tab. 4–5). Powlekanie roztworem kakao zarówno aglomeratu zawierającego 40, jak i 80% mleka pogorszyło sykłość (czas wysypu wydłużył się) o około 14%, natomiast powłoka z mleka wpłynęła na wydłużenie czasu wysypu odpowiednio o około 76 i 26%. Jedynie roztwór cukru zastosowany do powlekania wpłynął pozytywnie na badany parametr i czas wysypu był krótszy o około 19% w porównaniu z wartościami charakteryzującymi aglomerat niepowleczony.

Zdolność do płynięcia przez proszki potwierdziła analiza kąta zsypania i nasypu. Otrzymane wartości wskazują na podobne tendencje zachowań aglomeratów jakie wykazała analiza czasu wysypu z obracającego się naczynia.

Powlekanie roztworem cukru w istotnym stopniu poprawiło zwilżalność aglomeratów, co pozwoliło zaliczyć je do produktów instant. W przypadku tych produktów czas wysypu był krótszy od 15 ± 1 s [2]. Wraz ze wzrostem ilości cukru na powierzchni cząstek produktu czas zwilżania był krótszy (tab. 1). Po zastosowaniu 10 lub 20% cukru do powlekania czas zwilżania był krótszy odpowiednio o około 15 oraz 46%, natomiast 30% cukru przeznaczonego na powlekanie wpłynęło na skrócenie czasu całkowitego zwilżenia ponad trzykrotnie (tab. 1).

Powlekanie roztworem kakao aglomeratu 20% kakao + 80% cukru wpłynęło istotnie na wydłużenie czasu zwilżania (tab. 1). Czas zwilżania aglomeratu powleczonego roztworem kakao w ilości 10% wynosił 84 s, natomiast w przypadku 30% kakao – 150 s.

Mieszanki zawierające w składzie maltodekstrynę lub mleko w proszku powlekanie roztworami kakao, maltodekstryny lub mleka wykazały istotne pogorszenie zwilżalności (tab. 2–5). Jedynie aglomerat zawierający 40% maltodekstryny powleczony roztworem cukru charakteryzował się czasem zwilżania 16 s, co pozwoliło zaliczyć go do produktów wykazujących cechy instant (rys. 6). Natomiast w przypadku pozostałych proszków napoju kakaowego czas zwilżania zmieniał się od 22 s (aglomerat 20% kakao + 40% cukru + 40% mleka powleczony roztworem cukru) do 180 s (aglomerat 20% kakao + 80% mleka w proszku powleczony roztworem mleka).

Powlekanie roztworem cukru nie wpłynęło na rozpuszczalność poszczególnych aglomeratów. W przypadku aglomeratu o standardowym składzie rozpuszczalność wynosiła 95,8%, a po zastosowaniu 30% cukru do powlekania – 98,2% (tab. 1).

Podobnie w pozostałych mieszaninach nie wykazano istotnego wpływu powlekania oraz rodzaju substancji powlekającej na rozpuszczalność badanych produktów. Otrzymano jedynie tendencje poprawy rozpuszczalności po zastosowaniu powłoki z cukru oraz pogorszenia rozpuszczalności aglomeratów powleczonych roztworem kakao. Zastosowanie powłoki z maltodekstryny nie wpłynęło na zdolność do rozpuszczania aglomeratów (tab. 2–3), natomiast roztwór mleka wykazywał tendencje do poprawy rozpuszczalności przez aglomeraty zawierające w składzie 40 lub 80% mleka w proszku (tab. 4–5).

Wnioski

- 1) Powlekanie wpłynęło na zmianę właściwości fizycznych badanych sproszkowanych napojów kakaowych, a stopień wpływu był zależny od składu produktu i rodzaju substancji powlekającej. Wykazano poprawę właściwości ogólnych produktów powleczonych roztworem cukru, natomiast powłoki wytworzone z kakao, maltodekstryny lub mleka nie powodowały istotnych zmian analizowanych właściwości.

- 2) Zmiana przestrzennego rozmieszczenia składników żywności w proszku w aglomerowanym produkcie poprzez wytworzenie powłoki z jednego z komponentów stwarza możliwość przewidywania właściwości ogólnych, a przede wszystkim składu granulometrycznego, gęstości, sypkości i właściwości rekonstrykcyjnych. Stopień zmian uzależniony jest od właściwości i ilości produktu tworzącego powłokę.

Literatura

- [1] Beckett S., Quinarini G.: The design, construction, and testing of a device for mixing chocolate powder into water or milk. Eng. Food at ICEF, 1997, 7 (2), SI, 1–5.
- [2] Domian E., Lenart A.: Effect of the agglomeration on adsorption properties of milk powder, Drying'96 – Proceedings of the 10th International Drying Symposium, Kraków 1996, pp. 763–770.
- [3] Domian E., Lenart A.: Effect of the agglomeration on adsorption properties of milk powder, Drying'96 – Proceedings of the 10th International Drying Symposium, Kraków 1996, pp. 763–770.
- [4] Jankowski T.: Mikrokapsułkowanie składników żywności. W: Food Product Development – Opracowywanie nowych produktów żywnościowych. Wyd. AR, Poznań 1995, s. 53-58.
- [5] Kowalska J., Lenart A.: Influence of coating on sorption properties of cocoa drink powder, 14th International Congress of Chemical and Process Engineering CHISA 2000, Summaries 2, Separation Processes and Equipment, Praha 2000, p. 244
- [6] Kowalska J., Lenart A.: Izotermie sorpcji pary wodnej przez powleczony napój kakaowy w proszku, Materiały Konferencyjne V Międzynarodowej Konferencji Naukowej „Problemy Techniki Rolniczej i Leśnej”, Warszawa 19 – 20. 06. 2002, Wydawnictwo SGGW, 2002, s. 139
- [7] PN-A-74855-3:1996. Cukier. Metody badań. Oznaczenie granulacji i zawartości kostek nieszkodzonych
- [8] PN-A-79011-3:1998. Koncentraty spożywcze. Metody badań. Oznaczenie zawartości wody.
- [9] PN-ISO 8460:1999. Kawa rozpuszczalna. Oznaczenie gęstości nasypowej swobodnej i gęstości nasypowej ubitej.
- [10] Sjollemma A.: Some investigations on the free flowing properties of milk powders, Netherlands Milk and Dairy J., 1963, 17 (3), 245–259.

THE INFLUENCE OF COATING ON PHYSICAL PROPERTIES OF AGGLOMERATED POWDERED COCOA DRINK

Summary

The objective of this work was to determine the dependence between the general characteristics of an instant cocoa powder drink and the spatial distribution of its ingredients while changing the ingredient quantities and types of its coating substance.

The material investigated were the powdered mixes of the following substances: instant sugar, cocoa, maltodextrin, and milk powder. The basic composition of the mixes was made up of: 20% cocoa + 80% sugar; 20% cocoa + 40% sugar + 40% maltodextrin; 20% cocoa + 80% maltodextrin; 20% cocoa + 40% sugar + 40% milk powder; 20% cocoa + 80% milk powder. The mixes were agglomerated and, next, coated.

Prior to agglomerating individual mixes, 20% of one ingredient contained in the mix was taken from it. After the mix agglomerating process was completed, this 20% amount of one ingredient was added in form of a coating solution into the mix agglomerated. Owing to this routine, a coating layer was created around the mix's particles without changing the initial composition of each mix, which remained exactly the same.

The following parameters of the drinks under investigation were measured: granulometric composition, water activity, water content, powder density of loose and tapped cocoa powder drinks, friability, angle of repose on glass or metallic surface, pilling angle, and two reconstitution properties: wettability and solubility. The coating process caused changes in the general characteristics of the agglomerated cocoa powder drinks, and the influence level depended on the drink composition and the type of substances used for coating. It was stated that the general properties of products coated with a sugar solution were improved, but coating made up of cocoa, maltodextrin or milk powder caused no significant changes in the characteristics investigated.

Key words: instant cocoa powder, agglomeration, and coating. ☒

URSZULA KRUPA, MARIA SORAL-ŚMIETANA

NASIONA FASOLI – ŹRÓDŁEM ODŻYWCZYCH I NIEODŻYWCZYCH MAKROSKŁADNIKÓW

Streszczenie

W czterech odmianach fasoli białej (*Phaseolus vulgaris* i *Phaseolus coccineus*) analizowano występowanie makroskładników odżywczych (skrobi, białka, składników mineralnych, mono- i disacharydów) oraz nieodżywczych, pełniących funkcje fizjologiczne w układzie pokarmowym (błonnik pokarmowy, skrobia oporna, oligosacharydy). W liścieniach odmian *Phaseolus coccineus* (Eureka, Piękny Jaś) stwierdzono wyższą zawartość skrobi (ok. 48% s.m.) w porównaniu z odmianami *Phaseolus vulgaris* (Aura, Biała), a pod względem zawartości białka dominowały odmiany *Phaseolus vulgaris* (17% s.m.). Masę cząsteczkową białek amorficznych określono w przedziale od $20 \cdot 10^3$ – $97 \cdot 10^3$ Da. Składniki mineralne (ok. 3% s.m.) były rozmieszczone równomiernie w całych nasionach fasoli, niezależnie od odmiany. Liścienie odmian *Phaseolus vulgaris* cechowały się wysoką zawartością frakcji skrobi, której nie hydrolizuje α -amylaza trzuskowa. Pod względem zawartości błonnika pokarmowego dominowała frakcja nierozpuszczalna w wodzie (ok. 12%). Analiza wyodrębnionych z nasion fasoli rozpuszczalnych sacharydów wykazała obok glukozy i sacharozy obecność oligosacharydów: rafinozy i stachiozy. Tak więc wykazano, że nasiona fasoli są cennym produktem żywnościowym.

Słowa kluczowe: skrobia, białka, skrobia oporna, błonnik pokarmowy, oligosacharydy.

Wstęp

Wartość odżywcza nasion fasoli związana jest z wysoką zawartością białka, skrobi, makro- i mikroelementów [34]. Białka nasion roślin strączkowych cechuje wysoka zawartość kwasu glutaminowego i asparaginowego oraz egzogennej lizyny, w porównaniu z ziarnami zbóż [3, 14, 32]. Z żywieniowego punktu widzenia występujące w nasionach roślin strączkowych oligosacharydy z rodziny rafinozy mają duże znaczenie dla człowieka [1]. Wskazuje się, że odgrywają one pozytywną rolę w prawidłowym funkcjonowaniu przewodu pokarmowego ludzi i zwierząt, a szczególnie podkreśla się stymulujący wpływ na rozwój bifidobakterii w okrężnicy [12]. Stymulowa-

nie mikroflory przewodu pokarmowego wpływa na obniżenie poziomu cholesterolu we krwi [21], sprzyja wytwarzaniu witamin z grupy B, a także poprawia przyswajalność wapnia z diety oraz podnosi tolerancję laktozy [22]. Jednak brak endogennego enzymu, α -galaktozydazy, w układzie pokarmowym człowieka utrudnia hydrolizę oligosacharydów z rodziny rafinozy. Powoduje to często dyskomfort pokarmowy, bowiem metabolizm oligosacharydów zachodzi dopiero w jelicie grubym pod wpływem enzymów mikroflory jelitowej [2]. Towarzyszy tym procesom wytwarzanie znacznych ilości produktów gazowych, szczególnie w przypadku metabolizmu stachiozy i rafinozy [17]. Zaburzenia gastryczne, jako skutek fermentacji bakteryjnej m.in. oligosacharydów i skrobi odpornej, to jedna z przyczyn eliminowania nasion roślin strączkowych z diety. Jednak niewskazane jest unikanie ich spożywania, a jedynie ograniczenie do ilości bezpiecznej, bądź stosowanie odpowiedniego doboru procesów technologicznych, jak m.in. moczenie, gotowanie lub kiełkowanie nasion oraz procesy fermentacyjne i enzymatyczne [2, 35].

Spożywanie wysoko przetworzonej żywności, pozbawionej składników o funkcji fizjologicznej, m.in. błonnika pokarmowego, może sprzyjać powstawaniu otyłości i cukrzycy insulinoniezależnej. Istotną rolę w prewencji tych chorób, a także chorób układu krążenia i nowotworowych przypisuje się błonnikowi, definiowanemu jako „suma nieulegających strawieniu przez endogenne enzymy przewodu pokarmowego polisacharydów i lignin” [29]. Wysoka zawartość włókna pokarmowego w diecie pobudza funkcję żucia i wydzielania śliny, buforuje i wiąże nadmiar kwasu solnego w soku żołądkowym, zwiększa wypełnienie jelit, pobudza ich ukrwienie i aktywność motoryczną, tworzy też korzystne podłoże do rozwoju pożądaney flory bakteryjnej [39]. Podobnie jak niedostatek, również nadmiar spożywanego błonnika jest szkodliwy, bowiem zwiększone spożycie ogranicza wchłanianie składników mineralnych i może powodować biegunki. Umiarkowane spożycie błonnika w diecie łatwo jest osiągnąć poprzez racjonalną konsumpcję nasion roślin strączkowych, surowych warzyw lub owoców oraz produktów pochodzących z pełnego przemiału. W przypadku błonnika pokarmowego zalecane jego spożycie określa się od 20 do 35 g/dobę [31].

Kolejnym ważnym, z dietetycznego punktu widzenia, składnikiem nasion fasoli jest skrobia oporna (RS), zdefiniowana przez Aspa [7] jako „suma skrobi i produktów jej degradacji, nieabsorbowana w jelicie cienkim zdrowego człowieka, lecz ulegająca fermentacji w jelicie grubym” [8]. Podobnie jak błonnik, skrobia oporna charakteryzuje się wieloma korzystnymi dla zdrowia człowieka właściwościami. Jest substratem stymulującym wzrost mikroflory jelitowej, co skutkuje tworzeniem krótkołańcuchowych kwasów tłuszczowych w procesie fermentacji w jelicie grubym [13]. Ilość i proporcje kwasów tłuszczowych zależą od źródła pochodzenia botanicznego skrobi [36]. Są to głównie kwas octowy, propionowy i masłowy, które wspomagają wątrobę i mięśnie, a także, jak w przypadku maślanu, są źródłem energii potrzebnej do wzrostu i

prolifracji komórek epitelium. Obniżenie pH medium fermentacyjnego wskutek wykorzystania jako substratu skrobi odpornej kształtuje się zależnie od pochodzenia botanicznego skrobi [36]. Zjawisko obniżenia pH środowiska fermentacyjnego prowadzi w konsekwencji do wzrostu liczby bakterii kwasoodpornych *Bifidobacterium* i *Lactobacillus* [25].

W związku z rodzajem diety i nawykami żywieniowymi Polaków najczęściej spożywanym typem skrobi odpornej jest RS III, jako produkt procesu żelatynizacji i retrogradacji granul skrobi w ziemniakach, chlebie i produktach piekarskich [37]. W wielu krajach, w tym także w Polsce, obserwuje się korzystny wzrost ilości spożywanej skrobi odpornej, której źródłem są warzywa, owoce i soki owocowe. Brak jest ścisłych zaleceń dotyczących ilości skrobi odpornej, która powinna być spożywana, ale dane literaturowe pochodzące z okresu 1992–1997 z wielu krajów wskazują, iż zawiera się ona w szerokim zakresie od 3,5 do 8,5 g/dobę [9, 37, 38].

Pomimo wielu zalet obu składników, błonnika pokarmowego i skrobi odpornej, wynikających z ich korzystnego fizjologicznego oddziaływania na stan zdrowia oraz właściwości funkcjonalnych wpływających na polepszenie jakości wielu produktów [18], ich konsumpcja jest nadal trudna do określenia. Ważne więc jest propagowanie zmian przyzwyczajęń żywieniowych i popularyzowanie nowych tendencji, odpowiadających aktualnej piramidzie żywieniowej zwiększającej udział produktów pełnoziarnistych i warzyw w codziennej diecie.

Celem przeprowadzonych badań była analiza nasion fasoli jako produktu żywnościowego w aspekcie występowania makroskładników ważnych z punktu widzenia dobrostanu organizmu człowieka.

Material i metody badań

Badania prowadzone były na czterech odmianach fasoli białej: średnionasiennych (*Phaseolus vulgaris*): Aura (PPH „Cenos”, Września) i Biała (PPH „Kupiec”, Krzymów) oraz wielkonasiennych (*Phaseolus coccineus*): Eureka (HiNO, Gołębiew) i Piękny Jaś (PPH „Cenos”, Września), pochodzących ze zbiorów w 2001 r., których ocenę metryczną podano w tab. 1.

Analizie składu chemicznego poddano całe nasiona fasoli oraz liścienie i okrywę nasienną. Oznaczano wilgotność (130°C /1 h), zawartość skrobi ogółem [4], białka [5] i popiołu [5]. Do wyodrębnienia białek amorficznych z obłuszczonych nasion fasoli zastosowano metodę izolacji wg Fana i Sosulskiego [16]. Przeprowadzono ich rozdzielanie elektroforetyczne SDS-PAGE w 15% żelu poliakrylamidowym wg Laemmliego [28]. Do określenia mas cząsteczkowych otrzymanych frakcji białek użyto następujących wzorców: (97·10³ Da) fosforylaza b; (66·10³ Da) albumina; (45·10³ Da) owoalbumina; (30·10³ Da) anhydraza węglanowa; (20,1·10³ Da) inhibitor trypsyny; (14,4·10³ Da) α-laktoalbumina.

Tabela 1

Ocena metryczna nasion fasoli białej.
Metrical assessment of white bean seeds.

Odmiany nasion fasoli białej Bean seeds varieties	Masa 1000 nasion [g] Thousand seed mass [g]	Średnie wymiary nasion [mm] Average dimension [mm]		
		grubość thickness	długość length	szerokość width
Aura (<i>Phaseolus vulgaris</i>)	414,29	6,1 ± 0,56	13,7 ± 1,16	7,8 ± 0,63
Biała (<i>Phaseolus vulgaris</i>)	388,00	5,8 ± 0,42	13,2 ± 0,92	7,4 ± 0,48
Eureka (<i>Phaseolus coccineus</i>)	805,91	7,6 ± 0,67	17,8 ± 0,63	11,5 ± 0,52
PIĘKNY JAŚ (<i>Phaseolus coccineus</i>)	891,66	8,0 ± 1,05	18,1 ± 1,81	12,2 ± 0,87

Błonnik pokarmowy analizowano metodą Aspa i wsp. [6], oznaczając zawartość frakcji rozpuszczalnej (SDF) i nierozpuszczalnej (IDF). Zawartość skrobi odpornej (RS) oznaczono wg Champ i wsp. [13]. Skład oraz zawartość sacharydów rozpuszczalnych w roztworze 85% metanolu oznaczano za pomocą techniki HPLC. Do badań użyto zestawu chromatograficznego firmy Shimadzu składającego się z pompy LC-10AD, detektora refraktometrycznego RID-10A, systemu kontroli SCL-10AVP. Do analiz zastosowano kolumnę LUNA NH₂ (5 μ, 250 x 4,6 mm, Phenomex). Jako eluent używano 65% acetonitrylu. Prędkość przepływu wynosiła 1,5 ml/min, a objętość nanoszona na kolumnę 20 μl. Mikrostrukturę nasion fasoli po napyleniu suchych próbek warstwą złota analizowano w mikroskopie skaningowym JSM 5200 przy napięciu 5–10 KeV.

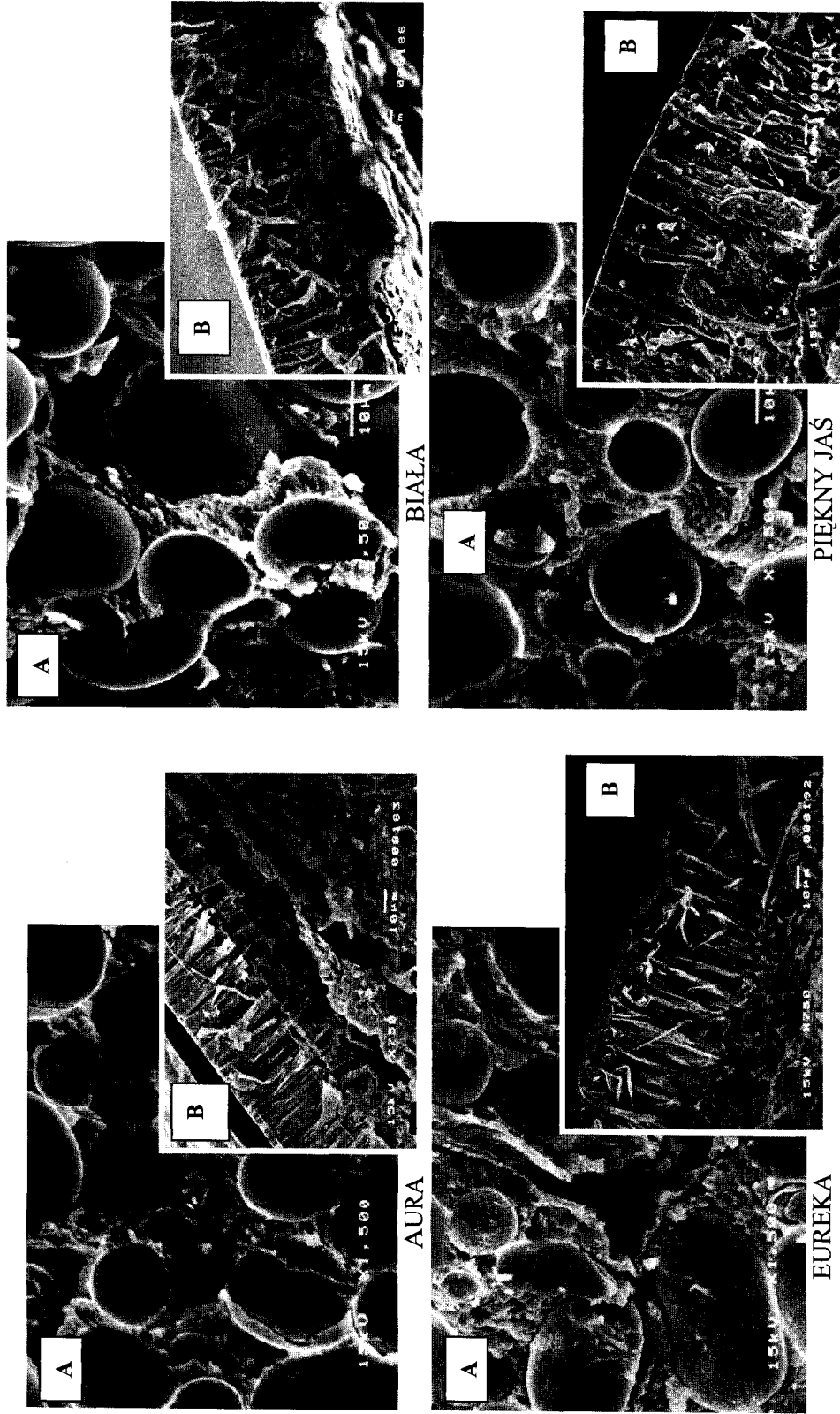
Wyniki i dyskusja

Spośród makroskładników pełniących ważną rolę odżywczą w żywności analizowano skrobię, białka i składniki mineralne ogółem (tab. 2). W całych nasionach wszystkich odmian fasoli zawartość skrobi ogółem kształtowała się różnorodnie, a ilość tego polimeru była porównywalna z uśrednionymi danymi tabelarycznymi w odniesieniu do nasion fasoli opisanymi przez Kunachowicz i wsp. [27]. Zawartość skrobi ogółem określona w obłuszczonych nasionach wskazała na zależność pomiędzy jej ilością a wielkością liścieni badanych nasion (tab. 1 i 2). Porównując uzyskane wyniki z wcześniejszymi badaniami [34], dotyczącymi tych samych odmian wielkosiennych, lecz pochodzących z innego sezonu wegetacji (1998 r.) można odnotować, że na gromadzenie tego polimeru oraz wielkość granул skrobi (fot. 1A), poza odmianą, również wpływają warunki klimatyczne w okresie wegetacji.

Tabela 2

Skład chemiczny nasion fasoli białej.
The chemical composition of white bean seeds.

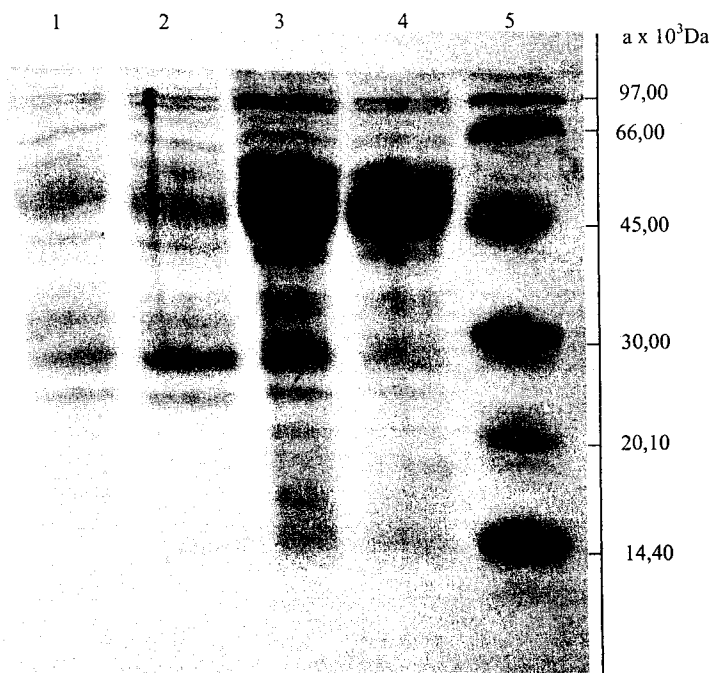
Nasiona fasoli białej – rodzaj próby Bean seeds varieties – kind of sample		Wilgotność [%] Moisture [%]	Skrobia ogółem [% s.m.] Total starch [% d.m.]	Białko [%] Protein [%] N x 6,25	Popiół [% s.m.] Ash [% d.m.]
Aura <i>(Phaseolus vulgaris)</i>	całe nasiona/ whole seeds	12,82	62,12 ± 2,38	17,76 ± 0,96	3,05 ± 0,08
	liścienie/ cotyledones	10,01	42,08 ± 2,71	19,68 ± 0,09	3,01 ± 0,28
	okrywa nasienna/ seed coats	8,15	-	5,43 ± 0,56	2,62 ± 0,14
Biała <i>(Phaseolus vulgaris)</i>	całe nasiona/ whole seeds	12,02	47,11 ± 2,44	17,22 ± 0,28	2,84 ± 4,41
	liścienie/ cotyledones	7,97	42,20 ± 2,03	21,61 ± 0,09	3,23 ± 0,07
	okrywa nasienna/ seed coats	9,37	-	6,08 ± 0,20	2,94 ± 0,04
Eureka <i>(Phaseolus coccineus)</i>	całe nasiona/ whole seeds	11,03	45,04 ± 0,42	17,20 ± 0,19	3,34 ± 0,03
	liścienie/ cotyledones	9,90	47,97 ± 1,59	18,90 ± 0,09	3,19 ± 0,07
	okrywa nasienna/ seed coats	9,02	-	5,40 ± 0,19	3,10 ± 0,18
Piękny Jaś <i>(Phaseolus coccineus)</i>	całe nasiona/ whole seeds	12,91	52,24 ± 1,05	15,80 ± 0,18	3,03 ± 0,08
	liścienie/ cotyledones	11,45	47,90 ± 0,82	16,56 ± 0,22	2,90 ± 0,14
	okrywa nasienna/ seed coats	8,54	-	5,65 ± 0,27	2,52 ± 0,07



Fot. 1. Elektronogramy (SEM) przekroju poprzecznego liścieni (A) i okrywy nasiennej (B) nasion fasoli białej.
 Phot. 1. Microstructure (SEM) of the cross-section of White Bean cotyledons (seed leaves) (A) and seed coats (B).

Zawartość białka w całych nasionach kształtowała się średnio na poziomie ok. 17% s.m. (tab. 2) i była zbliżona do wyników uzyskanych przez Sgarbieri [33]. Natomiast analiza białka jedynie w liścieniach wskazała, że odmiany średnionasienne Aura i Biała charakteryzowały się wyższą zawartością tego polimeru w porównaniu z badanymi wielkonasiennymi (tab. 2). W wyjaśnieniu tego zjawiska mogą być pomocne obserwacje przekroju badanych nasion (fot. 1A). W liścieniach nasion średniej wielkości *Phaseolus vulgaris* widoczna była gęściej upakowana matryca białkowa z wyraźną ziarnistością ciał białkowych. Z wcześniejszych badań obrazów przekroju liścieni takich odmian wynikało, że zawierały one więcej drobnych granул skrobi, co wiąże się z ukształtowaniem matrycy białkowej [34].

W wyodrębnionych, z liścieni nasion fasoli, białkach amorficznych po rozdziale elektroforetycznym wystąpiła odmienność mas cząsteczkowych podjednostek białkowych stwierdzona pomiędzy odmianami *Phaseolus vulgaris* i *Phaseolus coccineus* (fot. 2).



Fot. 2. Elektroforetyczny (SDS-PAGE) rozdział białek amorficznych nasion fasoli białej; 1 – Piękny Jaś, 2 – Eureka 3 – Biała, 4 – Aura, 5 – Marker.

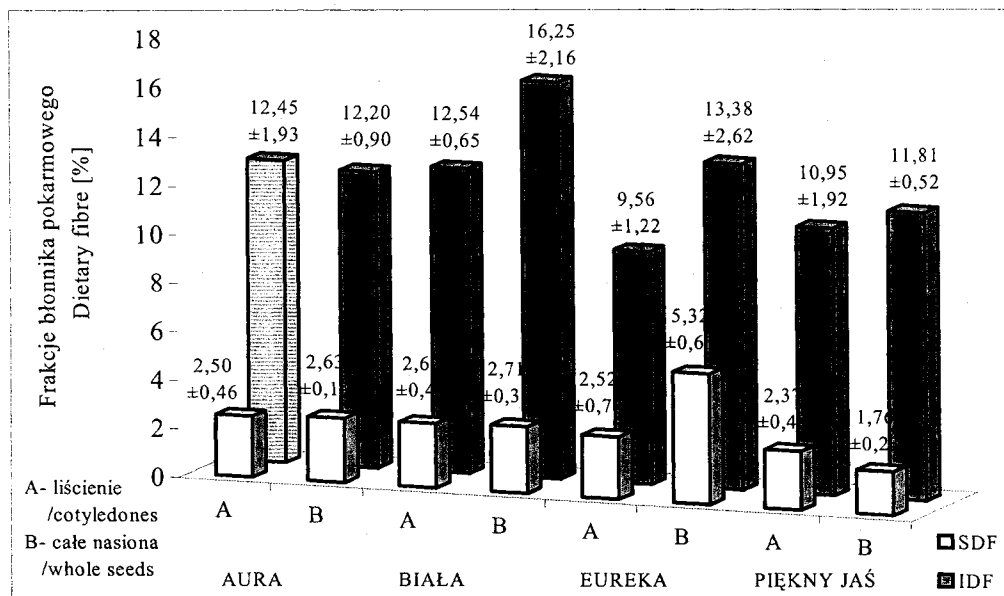
Phot. 2. Electrophoresis (SDS-PAGE) of amorphous proteins of white bean seeds.

W średnionasiennych *Phaseolus vulgaris* dominowały jednostki o masie obejmującej przedział od $45 \cdot 10^3$ Da do $60 \cdot 10^3$ Da. Porównanie ze standardem masowym sugeruje

ruje, że były to frakcje albuminowe lub im podobne. W profilu elektroforetycznym wystąpiły też białka o masie ok. $30 \cdot 10^3$ Da oraz ok. $97 \cdot 10^3$ Da, a także nieznaczące ilości o masie bliskiej $20 \cdot 10^3$ Da i $14 \cdot 10^3$ Da porównywalne do inhibitorów proteaz lub niskocząsteczkowych albumin.

Składniki mineralne ogółem, analizowane jako popiół, są ważne z żywieniowego punktu widzenia. Rozmieszczone były równomiernie w okrywie i liścieniach badanych nasion fasoli (tab. 2). Choć stanowią średnio ok. 3% s.m., to podkreślić należy, że są cennym źródłem potasu, pierwiastka stanowiącego od 14–20 mg/g całych nasion w zależności od odmiany [34].

Pośród makroskładników nieodżywczych pełniących funkcje fizjologiczne analizowano w nasionach fasoli występowanie błonnika pokarmowego, skrobi niehydroli-zowanej przez α -amylazę trzustkową oraz oligosacharydów.



Rys. 1. Zawartość frakcji rozpuszczalnej (SDF) i nierozpuszczalnej (IDF) błonnika pokarmowego w nasionach fasoli białej.

Fig. 1. Contents of a soluble (SDF) and insoluble (IDF) fractions of dietary fibre in white bean seeds

Analizując zawartość błonnika pokarmowego w całych nasionach i w liścieniach badanych odmian fasoli białej stwierdzono obecność przeważającej nierozpuszczalnej frakcji błonnika (IDF) (rys. 1). Średnia zawartość IDF w całych nasionach fasoli stanowiła ok. 12%, a przewyższyły ją odmiany Eureka i Biała. Źródłem frakcji IDF w całych nasionach jest ukształtowanie struktury okrywy nasiennej (fot. 1B) oraz struktura ścian komórkowych (fot. 1A). W ścianach komórkowych tworzy je warstwa pier-

wotna i wtórna zbudowana ze spirali celulozy wspomaganej hemicelulozami i ligniną. Natomiast pomiędzy warstwą pierwotną i wtórną występuje tzw. blaszka środkowa zbudowana z protopektyn i pektyn oraz hemiceluloz, które to składniki tworzą frakcję rozpuszczalną (SDF) błonnika pokarmowego.

Tabela 3

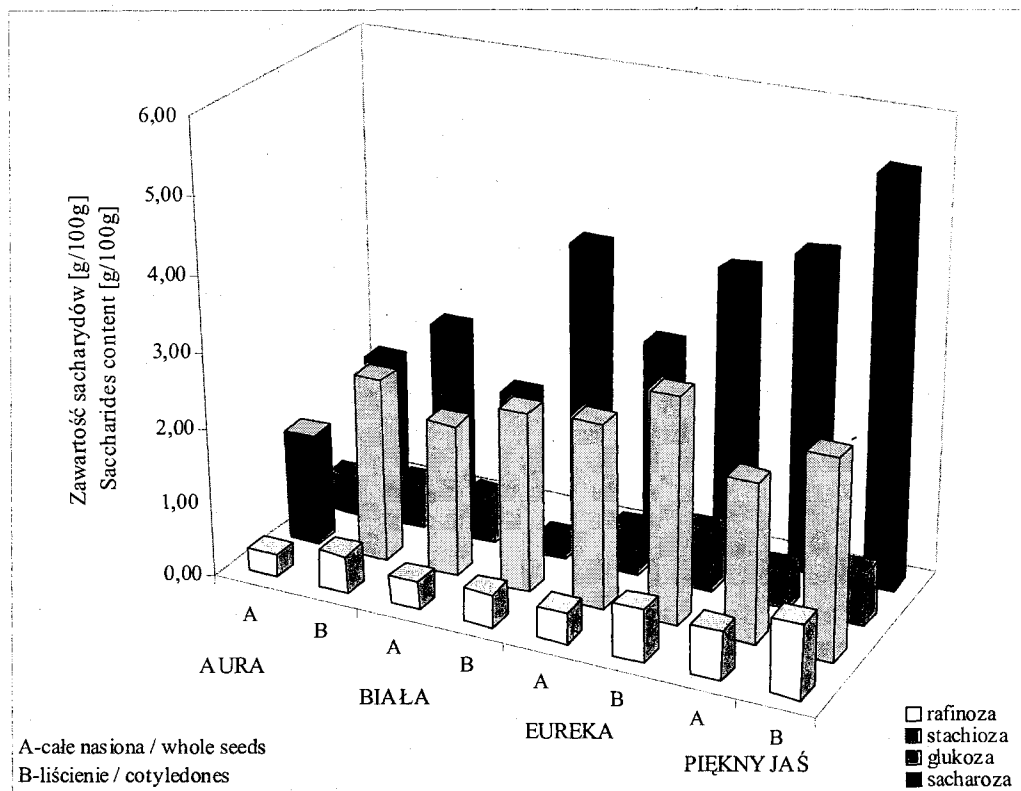
Zawartość skrobi odpornej w nasionach fasoli białej.
Content of the resistant starch (RS) in white bean seeds.

Nasiona fasoli białej – rodzaj próby Varieties of Bean seeds – sample types		Skrobia oporna [% s.m.] Resistant starch [% d.m.]
Aura (<i>Phaseolus vulgaris</i>)	całe nasiona/ whole seeds	2,33 ± 0,97
	liścienie/ cotyledones	24,54 ± 0,98
Biała (<i>Phaseolus vulgaris</i>)	całe nasiona/ whole seeds	20,68 ± 0,86
	liścienie/ cotyledones	28,15 ± 1,32
Eureka (<i>Phaseolus coccineus</i>)	całe nasiona/ whole seeds	15,69 ± 0,23
	liścienie/ cotyledones	16,25 ± 0,46
Pięknemu Jaś (<i>Phaseolus coccineus</i>)	całe nasiona/ whole seeds	18,45 ± 0,87
	liścienie/ cotyledones	21,75 ± 0,98

Zawartość frakcji rozpuszczalnej (SDF) w całych nasionach i liścieniach była porównywalna i wahała się od 2,7–1,8%, jedynie całe nasiona odmiany Eureka zawierały jej 2-krotnie więcej. Porównując uzyskane wyniki analizy błonnika pokarmowego z wcześniej prezentowanymi, podkreślić należy brak wpływu wielkości nasion na zawartość obu frakcji oraz ich wzajemną proporcję [34]. Klasyfikowanie błonnika pokarmowego ze względu na jego powinowactwo do wody ma znaczenie fizjologiczne. W przypadku SDF występuje oddziaływanie na glukozę i absorpcję tłuszczu z jelita cienkiego wskutek formowania lepkich żeli w treści jelita, zaś IDF wykazuje większy wpływ na funkcje jelita grubego [19].

Skrobia oporna, niehydrolizowana przez endoenzymy amylolityczne, jako składnik żywności pełnić może funkcję zbliżoną do rozpuszczalnej frakcji błonnika pokarmowego [18, 38]. W tej pracy analizowano jej obecność w całych nasionach oraz w liścieniach (tab. 3). Stwierdzono, że odmiany wielkonasienne charakteryzowały się niższą niż średnionasienne zawartością skrobi odpornej na hydrolizę α -amylazą trzustkową, co może być związane z gęstością przekroju liścieni oraz wielkością granул skrobi (fot. 1). Porównując uzyskane wyniki z wcześniej prezentowanymi [34] należy podkreślić, że zawartość odpornej skrobi w nasionach fasoli nie jest składnikiem standardowym, a bardziej zależnym od warunków klimatycznych i pogodowych, które oddziałują na ukształtowanie struktury liścieni oraz kształt i wielkość granул skrobi.

Potwierdza to badanie odmian wielkonasiennych, pochodzących ze zbiorów w 1998 r. [34] i aktualnych z 2001 r. Nasiona z 2001 r. zawierały prawie 3-krotnie więcej skrobi odpornej. Zatem można sugerować, że podobnie jak gromadzenie skrobi w liścieniach, również podatność granul skrobi na α -amylolizę wiązać należy nie tylko z odmianą, lecz z oddziaływaniem temperatury i czasu nasłonecznienia podczas syntezy i depozytowania polimeru – skrobi.



Rys. 2. Zawartość rozpuszczalnych sacharydów w nasionach fasoli białej.

Fig. 2. Content of soluble saccharides in white bean seeds.

W syntezie skrobi katalizowanej przez ATP-glikozylodifosforylaze, głównym substratem są reszty glikozylowe i ATP. Enzymy biorące udział w tworzeniu łańcucha amylozy i amylopektyny występują w postaci wielu homologicznych izomerów [10, 20]. Różnice w strukturze poszczególnych izomerów wynikają z modyfikacji genów, które kontrolują ich syntezę podczas rozwoju, co jest zależne od gatunku [24]. W procesie tworzenia granul skrobi interakcje pomiędzy amylozą i amylopektyną wciąż nie są wyjaśnione. Sugeruje się, że amyloza jest zdolna do infiltracji krystalicznej struktury

ry amylopektyny [11], co poprzez wzrost poziomu amylozy powoduje zmiany stosunku warstwy amorficznej do krystalicznej w strukturze granuli [23]. Tak więc podatność hydrolityczna skrobi w stosunku do endogennej α -amylazy trzuskowej może wykazywać znaczącą labilność związaną ze szlakiem biochemicznym kształtowania struktury granul skrobi w nasionach fasoli.

Analiza wyodrębnionych z nasion fasoli rozpuszczalnych sacharydów wykazała obecność oligosacharydów rafinozy i stachiozy oraz monosacharydu glukozy i disacharydu sacharozy (rys. 2). Biorąc pod uwagę całkowitą zawartość sacharydów, liście nie okazały się zasobniejszym ich źródłem, szczególnie odmian wielkonasiennych Eureka i Piękny Jaś. Należy podkreślić, że nasiona fasoli charakteryzowały się niską zawartością rafinozy (ok. 0,3–1,0 g/100 g), a ok. 10-krotnie wyższą zawartością tetrasacharydu – stachiozy. Odnotowano także, że glukoza występowała w dużej dysproporcji do sacharozy. Na podstawie porównania wyników własnych z uzyskanymi przez Amarowicza [2], a dotyczącymi zawartości oligosacharydów w nasionach roślin strączkowych, można stwierdzić, że badane nasiona fasoli cechowała wyższa zawartość rafinozy, a stachioza występowała na poziomie zbliżonym do wyników uzyskanych przez Kossona, ok. 2,5 g/100 g [26]. W analizowanych w niniejszej pracy odmianach jej zawartość kształtowała się w zakresie od 1,51 do 3,01 g/100 g.

Zatem na podstawie uzyskanych wyników można rekomendować nasiona fasoli jako produkt dostarczający substratów prebiotycznych (tj. oligosacharydów, skrobi odpornej, błonnika pokarmowego) do modulowania kwasolubnej mikroflory jelitowej, korzystnej dla zdrowia człowieka.

Wnioski

1. Nasiona badanych odmian fasoli *Phaseolus vulgaris* i *Phaseolus coccineus* są bogatym źródłem makroskładników odżywczych, takich jak: skrobia, białko, składniki mineralne oraz mono- i disacharydy.
2. Ze względu na występowanie w nasionach fasoli składników nieodżywczych o funkcjach fizjologicznych (oligosacharydy, skrobia oporna, błonnik pokarmowy) można je rekomendować jako element diety, w skład którego wchodzi substancje o charakterze prebiotyków.

Autorzy dziękują Panu dr Zbigniewowi Witkowi z „PlantiCo” Sp. z o.o. – Hodowla i Nasiennictwo Ogrodnicze z Szymanowa, za udostępnienie materiału (nasiona odm. Eureka) do niniejszych badań oraz doc. dr hab. Ryszardowi Amarowiczowi za pomoc i konsultacje analityczne.

Literatura

- [1] Amarowicz R.: Znaczenie żywieniowe oligosacharydów. Roczn. PZH., 1999, 1 (50), 89-95.
- [2] Amarowicz R.: Wpływ procesów technologicznych na zawartość oligosacharydów w nasionach roślin strączkowych. Bromat. Chem. Toksykol., 1999, 32 (1), 9-13.
- [3] Ampe C., van Damme J., de Castro A., Sampaio M.J., van Montagu M., Venderkerckhove J.: The amino acid sequence of the 2S sulphur-rich proteins from seeds of Brasil nut (*Bertholletia excelsa*) HBK. Eur. J. Biochem., 1986, 159, 597-604.
- [4] AOAC. Official Methods of Analysis. 12th ed., Washington 1975.
- [5] AOAC. Official Methods of Analysis. 15th ed., Arlington, Virginia 1990.
- [6] Asp N-G., Johansson C., Hallmer H., Siljeström M.: Rapid enzymatic assay of insoluble and soluble dietary fiber. J. Agric. Food Chem., 1983, 31, 476-482.
- [7] Asp N-G.: Resistant starch. Eur. J. Clin. Nutr., 1992, 46 (Suppl. 2), S1.
- [8] Asp N-G.: Resistant starch - an update on its physiological effects. Adv. Exp. Med. Biol., 1997, 427, 201-210.
- [9] Baghurst P.A., Baghrust K.I., Record S.J.: Dietary fiber, non-starch polysaccharides and resistant starch - a review. Food Aust., 1996, 3 (48), S3-S35.
- [10] Ball S.G., van de Wal M.H.: Progress in understanding the biosynthesis of amylose. Trends Plant Sci., 1998, 3, 462-467.
- [11] Bell S. i wsp.: From glycogen to amylopectin: a model for biogenesis of plant starch granules. Cell, 1996, 86, 349-352.
- [12] Benno Y., Mitsuoka T.: Development of intestinal microflora in humans and animals. Bifidibacteria Microflora, 1986, 5, 13.
- [13] Champ M., Martin L., Noah L., Gratas M.: Analytical methods for resistant starch. In: Complex Carbohydrates in Food, pod red. S. Sungsoo Cho, L. Prosky, M. Dreher. Marcel Dekker, Inc. New York 1999.
- [14] Cummings J.H., Englyst H.N.: Measurement of starch fermentation in the human large intestine. Can. J. Physiol. Pharmacol., 1991, 69, 121-129.
- [15] Duranti M. i Gius C.: Legume seeds: protein content and nutritional value. Fidel Drops Research 1997, 53, 31-45.
- [16] Fan T., Sosulski F.: Dispersibility and isolation of proteins from legume flours. Can. Inst. Food Sci. Technol. J., 1974, 7, 4.
- [17] Fleming S.A.: Flatulence activity of the smooth-seeds fidel pea as indicated by hydrogen production in the rat. J. Food Sci., 1982, 47, 12.
- [18] Gordon D.T., Topp K., Shi Y-C., Zallie J., Jeffcoat R.: Resistant Starch: Physical and Physiological Properties. W: New Technologies for Healthy Food and Nutraceuticals, pod red. M. Yalpani, ATL Press, Inc. Science Publishers, Shrewberry, MA 1997, 157-178.
- [19] Gray J.: Carbohydrates: nutritional and health aspects. ILSI Europe, Brussels 2003.
- [20] Harn C., Knight M., Ramakrishnan A., Guan H., Geeling P.L., Wasserman B.P.: Isolation and characterisation of the zSS Iia and zSS Iib starch synthase cDNA clones from maize endosperm. Plant Mol. Biol., 1998, 37, 639-649.
- [21] Hata Y., Nakajima K., Hosno Y., Yamamoto M.: Effect of soybean oligosaccharides on human digestive organs. J. Japan. Soc. Clin. Nutr., 1989, 11, 42.
- [22] Hughes J.B., Hoover D.G.: Bifidobacteria: Their potential for use in American dairy products. Food Technol., 1991, 45, 74.
- [23] Jenkins P.J. Donald A.M.: The influence of amylose on starch granule structure. Int. J. Biol. Macromol., 1995, 17, 315-321.

- [24] Kączkowski J.: Starch and other saccharides—modification and applications—a review. *Pol. J. Food Nutr. Sci.*, 2003, **12/53**, 1, 3-12.
- [25] Klaessen B., Strof G., Troll J., Schmiedl D., Nocka J., Blaut M.: Feeding resistant starch affects faecal and caecal mikroflora and short-chain fatty acids in rats. *J. Animal Sci.*, 1997, **75**, 2453-2462.
- [26] Kosson R.: Flatulence-causing galactooligosaccharides of *Phaseolus coccinesu* L. and *Phaseolus vulgaris* L. *Acta Sociata Bot. Polon.*, 1988, **57**, 493-497.
- [27] Kunachowicz H.: Tabele wartości odżywczej produktów spożywczych. Wyd. IŻŻ, Warszawa 1998.
- [28] Laemmli U.K.: Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T:4. *Nature*, 1970, **227**, 680-685.
- [29] Marlett J.A., McBurney M.I., Slavin J.L.: American Dietetic Association Reports. *J. Americ. Diet. Associat.*, 2002, **102/7**, 993-1000.
- [30] Piecyk M.: Filtracja żelowa białek amorficznych i krystalicznych z nasion fasoli przy użyciu HPLC. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2000, **3**, (24)Supl.
- [31] Pilch S.: Physiological effects and health consequences of dietary fibre. Bethesda, MD: Life Sciences Resaerch Office, Federation of American Societies for Experimental Biology, 1987.
- [32] Rockland L.B., Radke T.M.: Legume protein quality. *Food Technol.*, 1981, **28**, 79-82.
- [33] Sgarbieri V. C.: Composition and Nutritive value of bea (*Phaseolus vulgaris*), *World Rev. Nutr. Diet.* Basel Karger., 1989, **60**, 132-198.
- [34] Soral-Śmietana M., Krupa U., Markiewicz K.: White bean varieties – a source of elements, dietary fibre and resistant starch. *Pol. J. Food Nutr. Sci.*, 2002, **11/52**, SI 1, 17-24.
- [35] Soral-Śmietana M., Krupa U., Ocicka K.: Annealing-how it affects resistant starch and dietary fibre in large- and small-seed bean varieties? Materiały Ith Conference of the Interfood Network. Olsztyn 2002, 65-74.
- [36] Soral-Śmietana M., Wronkowska M., Amarowicz R.: Health-promoting function of wheat or potato resistant starch preparations obtained by physico-biochemical process. In: *Starch advances in structure and function* pod red. T.L. Barsby, A.M. Donald, P.J. Frazier, Royal Society of Chemistry, Cambridge 2001, UK, pp. 116-128.
- [37] Soral-Śmietana M., Wronkowska M.: Czy skrobia odporna na hydrolizę enzymatyczną może zastąpić błonnik pokarmowy? *Przem. Spoż.*, 1999, **53** (7), 22-24.
- [38] Soral-Śmietana M.: Resistant starch-nutritional or non-nutritional component of food. *Pol. J. Food Nutr. Sci.* 2000, **9/50**, 3S, 15-21.
- [39] Ziemiański Ś.: Normy żywienia człowieka. Wyd. Lek., PZWL. Warszawa 2001.

BEAN SEEDS - A SOURCE OF NUTRITIOUS AND NON-NUTRITIOUS MACRO-COMPONENTS

S u m m a r y

In four white bean varieties (*Phaseolus vulgaris* and *Phaseolus coccineus*), there was analyzed a content of nutritious macro-components (starch, protein, mineral compounds, and mono- and disaccharides) and non-nutritious ones that fulfill physiological functions in the human gastrointestinal tracts (i.e. the content of dietary fiber, resistant starch, oligosaccharides). As for the cotyledons of *Phaseolus coccineus* var. (Eureka, Piękny Jaś), it was stated that the content of total starch was higher (about 48 % d.m.) than in *Phaseolus vulgaris* var. (Aura, Biała). However, the protein content (17 % d.m.) was the highest in *Phaseolus vulgaris* var. The molecular mass of the amorphous protein was determined for the range from $20 \cdot 10^3$ to $97 \cdot 10^3$ Da. The mineral compounds (about 13 % d.m.) were regularly arranged within the structure of

whole seed beans, and the size of seeds was of no influence on this arrangement. The *Phaseolus vulgaris* var. cotyledons showed a high content of starch, and it is impossible for the pancreatic α -amylase to hydrolyze it. In the dietary fiber fraction the insoluble fraction was dominating (12 %). The analysis of soluble saccharides, separated from bean seeds, showed the presence of two oligosaccharides: raffinose and stachiose, as well as of glucose and saccharose. Thus, it has been proved that the bean seeds are a highly valuable food product and should be taken into consideration because of their health stimulating properties.

Key words: starch, proteins, resistant starch, dietary fiber, oligosaccharides. ☒

EWA MAJEWSKA

WALIDACJA MIARECZKOWEJ METODY OZNACZANIA ASPARTAMU Z ZASTOSOWANIEM METANOLANU SODU

Streszczenie

Przedmiotem badań było sprawdzenie możliwości zastosowania w analityce miareczkowej metody oznaczania aspartamu w wybranych produktach spożywczych. Aspartam oznaczano metodą miareczkową, stosując metanolan sodu jako substancję miareczkującą wobec wskaźnika pirokatecholu fioletu. Metoda ta została wstępnie przebadana z zastosowaniem elementów procedury walidacji, która ma na celu potwierdzenie naukowej poprawności metody analitycznej. Stwierdzono, że proponowana metoda może być stosowana w ograniczonym zakresie zawartości aspartamu. Charakteryzuje się ona dobrą selektywnością potwierdzoną w badaniach modelowych. Jest prosta i szybka w wykonaniu, jednak najlepszą precyzję i dokładność oznaczenia odnotowano w przypadku analizy słodzików stołowych.

Słowa kluczowe: aspartam, ilościowe oznaczenie, walidacja.

Wstęp

Postęp w dziedzinie technologii żywności, a także oczekiwania konsumentów poszukujących nowych środków spożywczych sprawiły, że substancje dodatkowe i różnego rodzaju dodatki do żywności odgrywają coraz większą rolę technologiczną i żywieniową. Jednym z aktualnych trendów w produkcji środków spożywczych jest modyfikacja składu recepturowego, prowadząca do otrzymania m.in. żywności niskoenergetycznej (w tym niskocukrowej, bezcukrowej, niskotłuszczowej). Otrzymywanie produktów nisko- i bezcukrowych możliwe jest przez zastosowanie tzw. zamienników cukru, takich jak aspartam. Substancje te charakteryzują się bardzo wysoką słodkością i są stosowane do nadania tego smaku produktom, w których całkowicie lub częściowo wyeliminowano sacharozę. Jednocześnie są one uznawane za dodatki do żywności, a to pociąga za sobą konieczność ich wszechstronnego przebadania przed wprowadze-

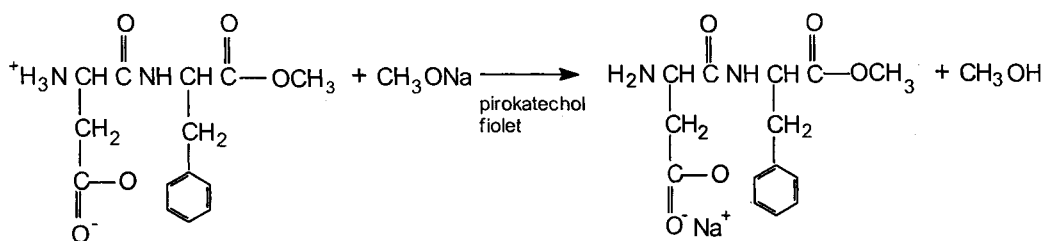
niem do obrotu. Ponadto niezbędne jest dysponowanie metodami analitycznymi, które pozwalałyby na szybkie i precyzyjne określenie ich zawartości w produktach. Jest to ważne z punktu widzenia kontroli jakości, polegającej na sprawdzaniu zgodności zawartości składnika z normą i recepturą, jak również dla technologów, przy określaniu takich parametrów procesu technologicznego, które nie spowodują szkodliwego zwykłe rozkładu substancji dodatkowej.

Celem pracy było zastosowanie metody miareczkowej z użyciem metanolanu sodu do oznaczania zawartości syntetycznego środka słodzącego – aspartamu w wybranych produktach spożywczych. Zakres pracy obejmował także poddanie powyższej metody procedurze walidacji, z uwzględnieniem takich parametrów jak: liniowość, selektywność, precyzja i dokładność.

Material i metody badań

Materiałem doświadczalnym były wybrane, rynkowe produkty spożywcze, w których zamiennikiem sacharozy był aspartam. Badaniom poddano: słodzik w tabletkach, kisiel typu light oraz czekoladę typu light.

Zawartość aspartamu w badanych produktach oznaczano metodą miareczkową z użyciem metanolanu sodu [3], która polega na reakcji kwasowo-zasadowej, jaka zachodzi pomiędzy grupą karboksylową aspartamu a metanolanem sodu w obecności pirokatecholu fioleto, co przedstawiono poniżej:



Reakcja ta zachodzi w warunkach bezwodnych, co zapewnia trwałość wiązania peptydowego aspartamu, a zastosowanie metanolanu sodu zabezpiecza przed możliwością jego transestryfikacji.

Przygotowanie próbek do analiz

Do kolb stożkowych odważano następujące ilości badanych produktów: kisiel – 40 g, czekolada – 50 g. Następnie w celu ekstrakcji aspartamu dodawano po 20 ml alkoholu metylowego i wytrząsano przez 15 min w temp. $20 \pm 2^\circ\text{C}$. Alkohol metylowy odparowywano w wyparce próżniowej, a pozostałość po odparowaniu rozpuszczano w mieszaninie benzenu z metanolem (3:1) i uzupełniano do 100 ml.

W przypadku słodziku w tabletkach naważkę (300 mg) rozpuszczano w mieszaninie benzenu z metanolem (3:1) i uzupełniano do 50 ml.

Oznaczanie zawartości aspartamu metodą miareczkową

Odczynniki

1. mieszanina benzen : metanol w stosunku objętościowym 3:1;
2. pirokatechol fiolet firmy SIGMA (nr kat. P-7884) – 0,1% (m/v); 100 mg pirokatecholu fioletu rozpuszczano w 100 ml mieszaniny benzenu z metanolem;
3. metanolan sodu – 0,05 M; 2,5 g metalicznego sodu rozpuszczano w 200 ml metanolu i uzupełniano benzenem do objętości 2000 ml.

Wykonanie oznaczenia

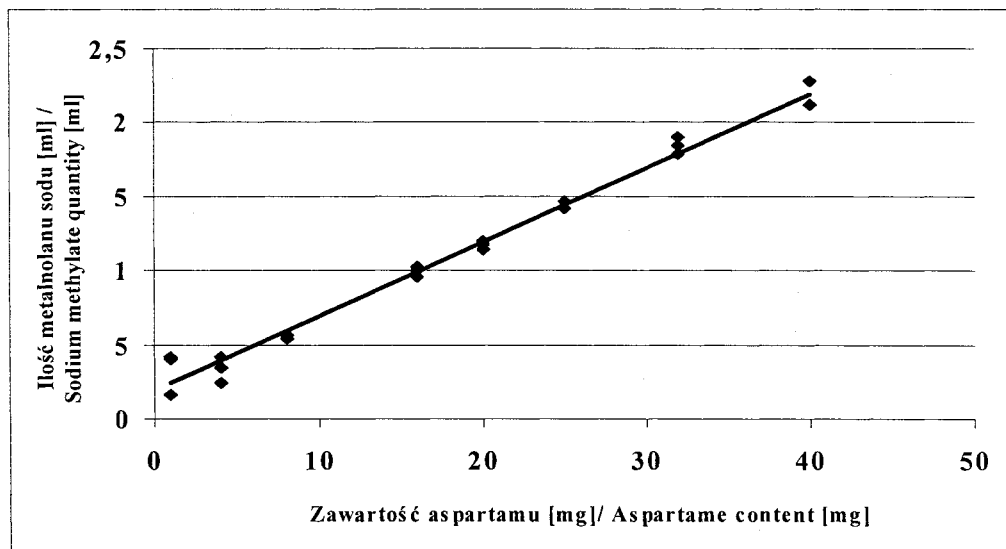
Do suchych kolb stożkowych przenoszono takie objętości roztworów badanych produktów, aby zawartość aspartamu wynosiła od 1 do 40 mg. Następnie dodawano po 20 ml mieszaniny benzenu z metanolem (3:1) i po 0,2 ml roztworu pirokatecholu fioletu. Otrzymaną mieszaninę miareczkowano metanolanem sodu aż do zmiany barwy z żółtej na niebieską.

Obliczanie wyników

Zawartość aspartamu w badanych produktach obliczano na podstawie równania krzywej wzorcowej (rys. 1), sporządzonej jako zależność objętości metanolanu sodu zużytego na zmiareczkowanie od stężenia aspartamu. Wyniki wyrażano w mg/100 mg lub w mg/100 g badanego produktu.

W ramach walidacji metody sprawdzano takie parametry, jak: liniowość, selektywność, precyzja, dokładność i powtarzalność oznaczeń aspartamu w badanych próbkach.

Liniowość metody sprawdzano poprzez analizę zależności objętości metanolanu sodu zużytego na zmiareczkowanie prób od stężenia aspartamu (1 - 40 mg/ml). Natomiast selektywność sprawdzano oznaczając zawartość aspartamu w roztworach modelowych, sporządzanych przez dodanie do standardowego roztworu aspartamu (200 mg/50 ml) takich ilości różnych substancji, aby ich stężenie było zbliżone do przeciętnej zawartości w badanych produktach. Analizowano roztwory z dodatkami następujących substancji: kwas cytrynowy, kwas askorbinowy, maltodekstryna, sacharoza, laktoza, glukoza oraz skrobia.



Rys. 1. Krzywa wzorcowa do oznaczania aspartamu ($y = 0,052x + 0,1416$).

Fig. 1. Calibration curve applied to determine the aspartame content ($y = 0,052x + 0,1416$).

Otrzymane wartości aspartamu porównano z rzeczywistą jego zawartością, równą 200 mg (przyjętą jako 100%).

Precyzję metody szacowano na podstawie współczynnika zmienności (RSD) wyrażonego w procentach. Oprócz RSD za ważny parametr w charakterystyce precyzji metody uznawana jest wartość HORRAT, która jest stosunkiem obliczonego RSD badanych próbek, do RSD obliczonego ze wzoru Horwitza [5]:

$$RSD = 2^{(1-0,5\log C)} \cdot 0,67$$

gdzie: RSD – względne odchylenie standardowe,

C – stężenie analitu.

Oceny dokładności, tzn. zgodności średniej wartości stężenia danego składnika z wartością należną, dokonywano na podstawie pomiaru badanego produktu z domieszką wzorca i określeniu odzysku. Badania prowadzono stosując jeden poziom fortyfikacji. W przypadku kisielu i czekolady dodawano taką ilość aspartamu, aby uzyskać wzbogacenie o 50% ilości aspartamu oznaczonego wcześniej w produktach, natomiast w przypadku słodziku w tabletkach stosowano wzbogacenie o 20%. Odzysk metody określano w stosunku do teoretycznie obliczonej zawartości środka słodzącego, stanowiącej sumę oznaczonego stężenia i poziomu wzbogacenia, przyjmując tę wartość za 100%.

Omówienie wyników

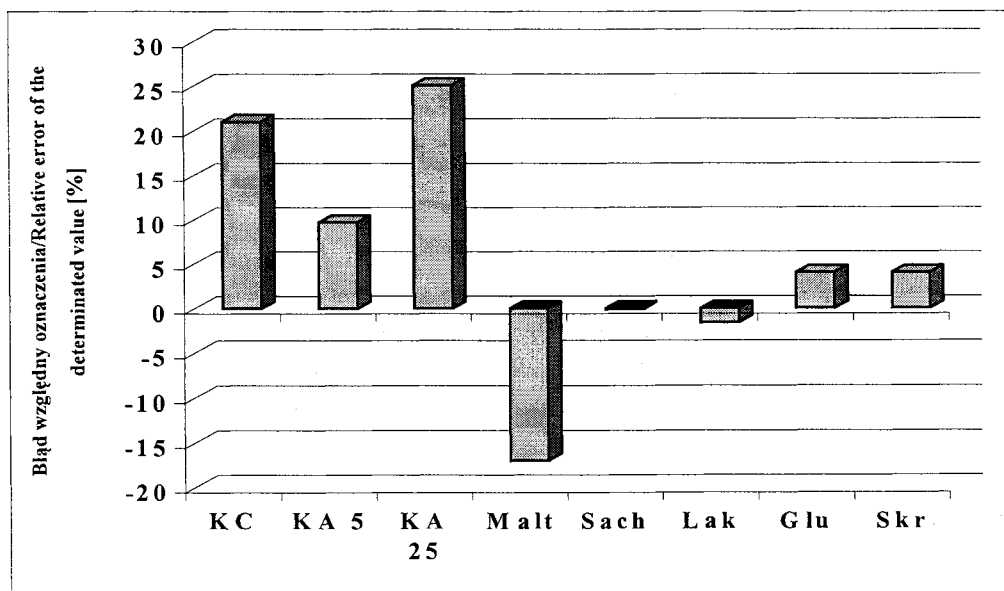
Otrzymana w badaniach wstępnych krzywa wzorcowa charakteryzowała się współczynnikiem korelacji równym 0,992 i miała przebieg prostoliniowy (rys. 1).

Wynik oznaczenia analitycznego ma sens wówczas, gdy sygnał analityczny pochodzący od oznaczanej substancji nie jest zakłócony przez inne składniki występujące w badanych próbkach. Na rys. 2. przedstawiono wielkość zaobserwowanego błędu obliczonego z równania:

$$\text{Błąd oznaczenia} = - [(M_{\text{asp}} - M_{\text{ozn}}) / (M_{\text{asp}})] \cdot 100 [\%]$$

gdzie: M_{asp} – zawartość aspartamu w roztworze standardowym,

M_{ozn} – ilość oznaczonego aspartamu w badanym roztworze modelowym.



Rys. 2. Wpływ różnych dodatków na selektywność metody oznaczania aspartamu.

Objaśnienia: KC – kwas cytrynowy, KA – kwas askorbinowy, Malt - maltodekstryna, Sach – sacharoza, Lak – laktoza, Glu – glukoza, Skr – skrobia.

Fig. 2. The effect of different additives present in the products on the selectivity of the determination method applied, where: KC – citric acid; KA – ascorbic acid; Malt – maltodextrin, Sach – saccharose; Lak – lactose; Glu – glucose; Skr – starch.

Wpływ maltodekstryny, kwasu cytrynowego i kwasu askorbinowego na otrzymany wynik oznaczenia aspartamu był największy. Maltodekstryna wpłynęła zaniżająco na odczyt o około 20%, natomiast dodatek kwasu cytrynowego spowodował zawyżenie wyników o ponad 20%. Dodatek 5 mg kwasu askorbinowego w roztworze modelowym wpłynął na zawyżenie otrzymywanych wyników o około 10%, a w przypadku dodania 10 mg kwasu askorbinowego wynik był zawyżony o około 20%. Zastosowa-

nie dwóch stężeń kwasu askorbinowego umożliwiło sformułowanie wniosku, że większa ilość kwasu obecna w badanych produktach zwiększa błąd oznaczenia. Pozostałe substancje nie wpływały w sposób znaczący na wyniki badań zawartości aspartamu, gdyż odchylenie od rzeczywistej zawartości, przyjmowanej jako 100%, wynosiło $\pm 3,5\%$. W związku z tym można stwierdzić, że metoda ta jest selektywna w stosunku do analitu jakim jest aspartam.

Powtarzalność oznaczeń aspartamu w badanych próbkach przedstawiono w tab. 1. Zawartość aspartamu oznaczona w słodzikach Sweetex i Aspol kształtowała się na identycznym poziomie 16,5 mg/100 mg, zaś w słodziku Sweet Top wynosiła 33,9 mg/100 mg preparatu słodzącego. Według danych producenta aspartamu [2] zawartość substancji słodzącej w jednej tabletkce ważącej 60-90 mg wynosi ok. 18-20 mg, czyli średnio 20-24 mg/100 mg produktu. Natomiast producent słodziku Aspol podaje, że w jednej tabletkce o masie 55 mg jest ok. 20 mg aspartamu, co w przeliczeniu na 100 mg produktu daje wartość 36,4 mg. W źródłach literaturowych autorzy podają [1], że zawartość aspartamu na poziomie 20-25 mg w tabletkce odpowiada słodkości sacharozy, co daje 33-42 mg substancji słodzącej w 100 mg słodziku stołowego. Otrzymana wartość aspartamu w słodziku Sweet Top zawiera się w tym przedziale. W przypadku słodziku Sweetex wartości nieznacznie różnią się od tej podanej przez producenta. Największą rozbieżność wykazuje słodzik Aspol, gdyż oznaczona wartość jest niższa o około 45% od deklarowanej. Wartość średniego odzysku w badanych słodzikach wahała się od 74 do 96%. W kisielu zawartość środka słodzącego – aspartamu kształtowała się na poziomie 1885 mg/100g produktu, natomiast w czekoladzie 258 mg/100g produktu. Średni odzysk uzyskany podczas analizy tych dwóch produktów wynosił odpowiednio: 74% i 139%. Odchylenia standardowe, świadczące o precyzji metody, kształtowały się na poziomie: w słodzikach – odpowiednio 2,25; 2,54 i 1,36 mg/100 mg w kisielu – 18,9 mg/100 g, natomiast w czekoladzie – 43,5 mg/100 g. Rozrzut wyników wahał się w granicach od 3,2% (w przypadku słodzika Aspol) do 114,9% (w przypadku czekolady).

W celu określenia precyzji oznaczeń posłużono się także współczynnikami zmienności (RSD, [%]), zwanymi również względnymi odchyleniami standardowymi. Zwyczajowo, szczególnie w badaniach międzylaboratoryjnych, za satysfakcjonującą przyjmuje się wartość RSD na poziomie 10% [4]. W badanych produktach najniższą wartość tego parametru uzyskano w przypadku kisielu, zarówno bez wzbogacenia (1,0%), jak i z 50% dodatkiem aspartamu (1,9%). Wartości współczynnika zmienności niższe od 10% otrzymano także w przypadku czekolady z 50% wzbogaceniem (3,8%), słodzika Sweet Top w obu wariantach (6,6% i 9,2%), a także słodzika Aspol bez wzbogacenia (8,2%). W pozostałych produktach wartości tego parametru uzyskano na poziomie **przekraczającym** 10%. Oprócz współczynnika zmienności, za ważny parametr w charakterystyce precyzji metody uznaje się wartość HORRAT [5]. Nie jest ona

Tabela 2

Parametry statystyczne dotyczące metody miareczkowej.
Statistical parameters of the titration method.

Parametry statystyczne Statistical parameters	Produkty / Products				
	Słodzik Sweet Top Sweet Top Sweetener	Słodzik Sweetex Sweetex Sweetener	Słodzik Aspol Aspol Swe- etener	Kisiel Starch gelly	Czekolada Chocolate
Liczba powtórzeń Number of repetitions	10	10	10	10	10
Średnia arytmetyczna Average value	33,9	16,5	16,5	1885	258
Wariancja Variance	5,1	6,5	1,8	574	1891
Odchylenie standardowe Standard deviation	2,25	2,54	1,36	18,9	43,5
Mediana Median	33,6	15,9	15,9	1883	265
Wartość minimalna Minimum value	32,0	12,6	15,9	1834	189
Wartość maksymalna Maximum value	38,4	19,1	19,1	1931	304
Rozrzut wyników Scatter of results	6,4	6,5	3,2	96	115
Błąd standardowy Standard error	0,7	0,8	0,4	7,6	16,5
Przedział ufności Confidence interval of the average value	± 1,6	± 1,8	± 1,0	± 17,0	± 31,1

Nowe metody, wcześniej niestosowane, uznaje się za zwalidowane, jeśli obliczone wartości HORRAT są porównywalne z wartością metody normatywnej. Jeśli jednak brak jest metody, z którą można charakteryzowaną metodę porównać, wówczas teoretyczne wartości powtarzalności są obliczane na podstawie równania Horwitza.

Wartość HORRAT jest to stosunek obliczonego RSD badanych próbek do RSD obliczonego ze wzoru Horwitza. Jeśli wartość tego parametru jest niższa bądź równa 2, wówczas powtarzalność metody uważa się za satysfakcjonującą [5]. Obliczone wartości parametru HORRAT (tab. 2) w odniesieniu do badanych produktów zdecydowanie przekroczyły liczbę 2, tylko w przypadku kisielu wartość tego parametru nieznacznie przekroczyła wartość 2.

Niepewność pomiaru jest pojedynczym parametrem (zazwyczaj jest to odchylenie standardowe średniej próbki, czyli błąd standardowy lub przedział ufności), który na podstawie wyniku pomiaru określa zakres możliwych wartości. W badanych produktach spożywczych wartości błędu standardowego kształtowały się na poziomie od 0,4 (słodzik Aspol) do 16,5 (czekolada), natomiast przedziały ufności ($\alpha=0,05$) w tych wyrobach wahały się w granicach od $\pm 1,0$ do $\pm 31,1$ odpowiednio w tych samych produktach.

Wnioski

1. Zależność między stężeniem aspartamu a ilością metanolanu sodu zużytego na jego zmiareczkowanie w badanych próbkach ma charakter liniowy.
2. Metoda miareczkowego oznaczania aspartamu z użyciem metanolanu sodu charakteryzuje się dobrą selektywnością w stosunku do innych substancji.
3. Największą precyzję i dokładność oznaczenia odnotowano w przypadku słodzików stołowych.
4. Metoda jest szybka, prosta w wykonaniu i nie wymaga kosztownego sprzętu, jednak cechuje się ograniczonym zastosowaniem, gdyż jej dokładność zależy od poziomu zawartości aspartatu.

Literatura

- [1] Askar A., Saddik F.: Application with sweeteners. *Fruit Processing*, 1996, **10**, 394-398.
- [2] Nutra Sweet: Informacje techniczne. Materiały firmy NutraSweet AG, Warszawa 1999.
- [3] Prasad U.V., Divakar T.E., Sastry S.P., Rao V.M., Kapur O.P.: New methods for the determination of aspartame. *Food Chem.*, 1988, **28**, 269-278.
- [4] Tyszkiewicz S.: Zasady prowadzenia międzylaboratoryjnych badań precyzji metod analitycznych – organizacja, statystyczna interpretacja danych oraz praktyka na przykładzie oznaczania metali toksycznych. W: Tyszkiewicz S. (red) *Postęp w analizie żywności*. Tom III. Wybrane zagadnienia analizy chemicznej i fizykochemicznej. Wyd. IPMiT, Warszawa 1993, s. 130-168.
- [5] Wood R.: How to validate analytical methods. *Trends in Analytical Chemistry*, 1999, **18**, 624-632.

VALIDATION OF THE TITRATION METHOD APPLIED TO DETERMINE THE ASPARTAME CONTENT USING SODIUM METHYLATE**S u m m a r y**

The objective of this study was to prove whether or not it is possible to apply a titration method in determining the aspartame content in food products. The aspartame content was determined using a sodium methylate as the titrator and a pyrocatechol violet as the indicator. Firstly, this method was tested using elements of the validation procedure, which had to confirm the scientific correctness of the analytical method. It is stated that the method investigated can be used, but only within a limited range of the aspartame content. It shows a good selectivity feature confirmed by some scientific model analyses. Generally, it is a simple and quick method, however, it proved to be the most precise and accurate when applied to analyze some table sweeteners.

Key words: aspartame, quantitative determination, validation. ☒

MAGDALENA MICHALCZYK, ANNA LESZCZYŃSKA-FIK

LISTERIA MONOCYTOGENES W PRZETWORACH TYPU „GRAVAD” Z PSTRĄGĄ TĘCZOWEGO (*ONCORHYNCHUS MYKISS*)

Streszczenie

Oszacowano częstość występowania *Listeria monocytogenes* w tuszach pstrągów tęczowych dostępnych w obrocie handlowym. *Listeria spp.* wyizolowano ze wszystkich prób ryb zakupionych w lokalnych sklepach rybnych, a w 50% przypadków była to *L. monocytogenes*. W rybach pobieranych w różnych okresach czasu bezpośrednio od producenta bakterii tych nie stwierdzono. W gravadach z pstrąga tęczowego zainokulowanych *L. monocytogenes* w liczebności <100 komórek/g surowca, dojrzewających 3 doby w temp. 3°C i składowanych w tej samej temperaturze przez 4 tygodnie, zaobserwowano stopniowe wymieranie badanego drobnoustroju.

Słowa kluczowe: *Listeria monocytogenes*, pstrąg tęczowy, gravad.

Wstęp

Przetwory typu „gravad” należą do regionalnych, tradycyjnych, skandynawskich delikatesów rybnych. Produkują się je najczęściej z łososia, grenlandzkiego halibuta, a rzadziej z makreli lub śledzia [10]. Filety, wraz ze skórą, tych odpowiednio tłustych ryb traktuje się mieszaniną soli, cukru oraz przypraw, takich jak pieprz i koper. Filety układa się stronami wewnętrznymi do siebie i składa je 1 do 4 dni w temp. około 5°C. Po tym czasie, odwodnione już w dużym stopniu, nasączone solą i cukrem ryby pakuje się w warunkach próżniowych i przechowuje zwykle przez 4 do 6 tygodni [5, 10, 11, 14]. Wyrób taki może być nośnikiem bakterii *Listeria monocytogenes*, której występowanie stwierdzano na skórze ryb i w środowiskach wodnych. Drobnoustroj ten zdolny jest do wzrostu w temperaturze chłodniczej ($\geq 2,5^{\circ}\text{C}$), wytrzymuje wysokie zasolenie ($\leq 10\%$ NaCl) i warunki beztlenowe oraz pH 5,6–9,8, istnieje więc obawa, że w trakcie trwającego kilka tygodni składowania mógłby namożyć się nawet przy niewielkim zakażeniu początkowym do poziomu groźnego dla konsumentów [1, 11].

Wobec rosnącego popytu na żywność nisko przetworzoną, a także wzrostu zainteresowania wyrobami regionalnymi wywodzącymi się z różnych części świata, można się spodziewać, że produkty typu „gravad” znajdą nabywców również na rynku polskim i być może staną się przetworami przygotowywanymi w domu. W warunkach krajowych wydaje się, że najodpowiedniejszym surowcem do ich produkcji jest pstrąg tęczowy, który będąc rybą hodowlaną, jest stosunkowo tani i łatwy do kontrolowania pod względem bezpieczeństwa zdrowotnego.

Celem pracy było oszacowanie częstości występowania *Listeria monocytogenes* w tuszach pstrągów tęczowych dostępnych w obrocie towarowym oraz stwierdzenie czy drobnoustrój ten przy jego niewysokiej liczebności początkowej jest w stanie namnożyć się w trakcie produkcji i składowania wyrobów gravadowanych do poziomu stanowiącego ryzyko dla konsumentów.

Materiał i metody badań

Materiałem do badań częstości występowania *Listeria spp.* były pstrągi zakupione w 10 różnych stoiskach rybnych na terenie Krakowa oraz siedem partii ryb pobranych bezpośrednio od tego samego producenta, w różnych odstępach czasu. W badaniach nad przeżywalnością *L. monocytogenes* użyto szczepu PEM 2191/ser ½. Ryby wolne od tej bakterii filetowano z pozostawieniem skóry, a następnie zanurzano w kąpieli zawierającej ok. 100 komórek *L. monocytogenes* w 1 ml. Tak przygotowane, nacierano mieszaniną soli i cukru. Zastosowano trzy warianty dodatku mieszaniny sól/cukier na 100 g ryby:

- I 6 g soli/9 g cukru,
- II 12 g soli/18 g cukru,
- III 18 g soli/27 g cukru.

Dojrzewanie prowadzono składując ryby przez 3 doby w temp. 3°C. Gotowy produkt, po zapakowaniu próżniowym, przechowywano w tej samej temperaturze przez cztery tygodnie.

Ogólną liczbę bakterii oznaczano na podłożu PCA (Merck) po 72-godz. inkubacji w temp. 30°C. Bakterie z rodzaju *Listeria* izolowano zgodnie z metodą opracowaną przez firmę Merck (Diagram of Procedure acc. to ISO/CD draft 11290 and Methode de Routine AFNOR V08-055 Detection of *Listeria monocytogenes*). Do analizy pobierano po 10 g gravadów. Stosowano dwustopniowe namnażanie w bulionie Frazera i przesiew na stałe podłoże różnicujące Oxford. Dalsze postępowanie identyfikacyjne obejmowało oznaczanie charakterystycznego wzrostu na podłożu półpłynnym w słupku, wykonanie preparatu mikroskopowego metodą Grama oraz szeregu reakcji biochemicznych. Reakcje te obejmowały oznaczenie aktywności katalazy, ureazy, wykorzystanie cytrynianu, produkcję indolu, reakcję M-R i V-P, redukcję azotanów, zdol-

ność hemolizy oraz rozkładu eskuliny, glukozy, maltozy, ramnozy i mannitolu. Wykonywano je zgodnie z powszechnie przyjętymi metodami [2].

Zawartość chlorków w przetworach oznaczano metodą Mohra [13].

Wyniki i ich omówienie

Bakterie *Listeria* wyizolowano z prób zakupionych na stoiskach rybnych, a nie stwierdzono jej w surowcu pobranym bezpośrednio od producenta (tab. 1). Pomimo tego, że *Listeria spp.* jest wykrywana w środowiskach wodnych, to jednak głównym jej źródłem w rybach są zakażenia krzyżowe wynikające ze zbyt niskiej higieny obrotu handlowego. Jemmi i Keusch [8] badając 36 próbek wody z trzech szwajcarskich gospodarstw, zajmujących się hodowlą pstrąga tęczowego, tylko w 11% prób stwierdzili obecność *Listeria spp.*, przy czym w żadnej nie było *L. monocytogenes*. Wszystkie próby dodatnie pochodziły tylko z jednego gospodarstwa używającego wody rzecznej do prowadzenia hodowli. Na 1/3 z 45 próbek skóry badanych przez nich ryb stwierdzono *Listeria spp.* Zainfekowany surowiec pochodził tylko z dwóch farm. Badacze zwracają uwagę, że sposób prowadzenia gospodarstwa, pochodzenie wody, metoda jej wymiany, możliwość czyszczenia i odkażania stawów oraz dostęp do zbiorników dzikich ptaków, będących często nosicielami tego drobnoustroju, ma zasadniczy wpływ na skażenie ryb pałeczkami *Listeria*. Gonzales i wsp. [7] w żadnej z 30 pobranych próbek wody i ryb z dwóch gospodarstw pstrąga tęczowego nie stwierdzili tych potencjalnie chorobotwórczych bakterii. Według Bykowskiego [3], do 25% pstrągów z hodowli jest skażonych omawianym drobnoustrojem.

Tabela 1

Częstość występowania *Listeria spp.* w pstrągach tęczowych dostępnych w handlu.
Frequency of *Listeria spp.* occurrence in rainbow trouts on retail trade.

Badany materiał Tested material	Liczba badanych próbek Number of examined samples	Liczba próbek w których stwierdzono <i>Listeria spp.</i> Number of samples with <i>Listeria spp.</i>	Liczba próbek w których obecna była <i>L. monocytogenes</i> Number of samples with <i>L. monocytogenes</i>
Surowiec pobrany ze stoisk rybnych Raw material from retail outlets	10	10	5
Surowiec zakupiony bezpośrednio od producenta Raw material from producent	7	0	0

Tabela 2

Przeżywalność *L. monocytogenes* w przetworach typu „gravad” z pstrąga tęczowego.

Survival of *L. monocytogenes* in „gravad” type products from the rainbow trout.

Badany materiał Tested material	Ogólna liczba bakterii w 1 g Total bacteria count (cfu/g)	<i>Listeria monocytogenes</i>	
Surowiec Raw material	$7 \cdot 10^4$	Nieobecna Absent	
Surowiec po inokulacji Material after inoculation	$7 \cdot 10^4$	Obecna na poziomie < 100 komórek/g Present on the level < 100 cells/g	
Próby po trzech dobach dojrzewania Samples after three days of maturing	I	$5 \cdot 10^4$	Obecna na poziomie < 100 komórek/g Present on the level < 100 cells/g
	II	$2 \cdot 10^3$	Obecna na poziomie < 100 komórek/g Present on the level < 100 cells/g
	III	$1 \cdot 10^3$	Nieobecna w 10 g Absent in 10g
Po tygodniu składowania After one week of storage	I	$1,2 \cdot 10^5$	Nieobecna w 10 g Absent in 10 g
	II	$4 \cdot 10^3$	Nieobecna w 10 g Absent in 10 g
	III	$3 \cdot 10^3$	Nieobecna w 10 g Absent in 10 g
Po dwóch tygodniach składowania After two weeks of storage	I	$2 \cdot 10^4$	Nieobecna w 10 g Absent in 10 g
	II	$1 \cdot 10^3$	Nieobecna w 10g Absent in 10 g
	III	$1,2 \cdot 10^3$	Nieobecna w 10 g Absent in 10 g
Po trzech tygodniach składowania After three weeks of stor- age	I	$3 \cdot 10^4$	Nieobecna w 10 g Absent in 10g
	II	$1,3 \cdot 10^3$	Nieobecna w 10 g Absent in 10 g
	III	$2,7 \cdot 10^3$	Nieobecna w 10 g Absent in 10 g
Po czterech tygodniach składowania After four weeks of stor- age	I	$3 \cdot 10^4$	Nieobecna w 10 g Absent in 10 g
	II	$3 \cdot 10^3$	Nieobecna w 10 g Absent in 10 g
	III	$2 \cdot 10^3$	Nieobecna w 10 g Absent in 10 g

Po inokulacji wolnego od *Listeria* surowca i poddaniu go procesowi gravadowania oraz po przechowywaniu nie tylko nie stwierdzono wzrostu *L. monocytogenes*, ale

nawet zauważono jej wymieranie, przy poziomie inokulacji poniżej 100 komórek/g, już po trzech dniach dojrzewania, gdy dodatek mieszaniny cukrowo-solnej wynosił 45 g/100 g ryby (tab. 2).

Dalsze składowanie powodowało wymieranie bakterii również przy niższych stężeniach mieszanki. W analizowanych warunkach ogólna liczebność bakterii również ulegała powolnej redukcji. Uzyskane wyniki nie w pełni korespondują z przedstawionymi przez innych autorów częstościami występowania *Listeria* w produktach poddanych procesowi gravadowania dostępnych w handlu. Lyhs i wsp. [12] stwierdzili obecność tego drobnoustroju w 14 z 43 zbadanych próbek gravadów, a Jørgensen i Huss [9] oznaczyli jako zainfekowane odpowiednio 25 i 33% gravadów z łososia i halibuta. Przy czym pięciu producentów dostarczyło wyroby, wśród których tylko poniżej 10% było zakażonych, natomiast od dwóch producentów gravady w prawie 90% były zanieczyszczone. W trakcie przechowywania w temp. 5°C wyrobów zainfekowanych *Listeria*, liczba tych bakterii zdaniem autorów wzrosła.

Rozbieżność pomiędzy danymi z przedstawionej literatury a uzyskanymi w tym doświadczeniu może wynikać z nieco innych warunków wytwarzania i składowania przetworów typu „gravad”. Lyhs i wsp. [12] podają, że zgodnie z deklaracjami producentów zawartość soli w ich wyrobach wahała się w granicach 1,5–4,1%. Oznaczony w wariancie I udział chlorku sodu wynosił 4,9%, w II 5,9%, a w III 8,6%. Należy przypuszczać, że w filetach pstrągów, jako znacznie mniejszych niż łososia czy halibuta, dochodzi do znacznie szybszego i pełniejszego nasycenia solą i cukrem. Cytowani autorzy nie podają zakresu temperatury, w jakiej następowało dojrzewanie badanych przez nich produktów, natomiast jako temperaturę składowania gotowego wyrobu wymieniają 8°C [5, 11, 15]. W opisywanym doświadczeniu filety dojrzewały w temp. 3°C i w takiej samej temperaturze były też przechowywane. Pomimo, że Fernandes i wsp. [6] nie stwierdzili żadnej inhibicji *Listeria* przez naturalną mikroflorę pstrąga tęczowego, to jednak proces dojrzewania wpływa na znaczącą modyfikację jej pierwotnego składu. W warunkach tych stwierdza się m.in. wzrost *Carnobacterium spp.*, mającego hamujący wpływ na wzrost *Listeria monocytogenes* [4, 14, 15]. Niewątpliwie w warunkach rzeczywistych mogą się zdarzyć przypadki wyższego wyjściowego zakażenia surowca. Być może również wybór konkretnego szczepu *L. monocytogenes* użytego do inokulacji miał wpływ na uzyskane, optymistyczne wyniki. Pomimo, że różny był czas dojrzewania ryb badanych przez innych autorów (2 dni) i użytych w tej analizie (3 dni), to trudno przypuszczać, aby fakt ten mógł mieć duże znaczenie dla przeżywalności pałeczek *Listeria*.

Wnioski

1. W warunkach hodowli stawowej istnieją techniczne możliwości produkcji pstrąga tęczowego wolnego od *Listeria monocytogenes*, bądź zakażonego nią w minimalnym stopniu.
2. Przy niewysokiej liczebności badanego drobnoustroju (poniżej 100 komórek/g surowca) właściwie przeprowadzone procesy gravadowania i składowania gotowego wyrobu wpływają na jego wymieranie.

Literatura

- [1] Brackett R.E.: Presence and persistence of *Listeria monocytogenes* in food and water. Food Technol., 1998, 4, 162-164.
- [2] Burbianka M., Pliszka A., Burzyńska H.: Mikrobiologia Żywności, PZW, Warszawa 1983.
- [3] Bykowski P.: Jakość zdrowotna surowców i produktów pochodzenia wodnego. Przem. Spoż. 1998, 7, 13-16.
- [4] Duffes F., Leroi F., Boyaval P., Dousset X.: Inhibition of *Listeria monocytogenes* by *Carnobacterium spp.* strains in simulated cold smoked fish system stored at 4°C. Int. J. Food Microbiol., 1999, 47, 33-42.
- [5] Ericsson H., Stalhandske P.: PCR detection of *Listeria monocytogenes* in gravad rainbow trout. Int. J. Food Microbiol., 1997, 35, 281-285.
- [6] Fernandes C., Flick G.J., Thomas T.B.: Growth of inoculated psychrotropic pathogens on refrigerated fillets of aquacultured rainbow trout and channel catfish. J. Food Prot., 1998, 61(3), 313-317.
- [7] Gonzalez C.I., Lopez-Diaz T.M., Garcia-Lopez M.L., Otero A.: Bacterial microflora of wild brown trout (*Salmo arutta*), wild pike (*Esox lucius*), and aquaculture rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). J. Food Prot., 1999, 62/11, 1270-1277.
- [8] Jemmi T., Keusch A.: Occurrence of *Listeria monocytogenes* in freshwater fish farms and fish-smoking plants. Food Microbiol., 1994, 11, 309-316.
- [9] Jorgensen L.V., Huss H.H.: Prevalence and growth of *Listeria monocytogenes* in naturally contaminated seafood. Int. J. Food Microbiol., 1998, 42, 127-131.
- [10] Knochel S.: Fish fermentation technology. The United Nations University, 1993, pp. 53-70.
- [11] Loncarevic S., Tham W., Danielsson-Tham M.L.: Prevalence of *Listeria monocytogenes* and other *Listeria spp.* in smoked and „Gravad” fish. Acta Vet. Scan., 1996, 37, 13-18.
- [12] Lyhs U., Hatakka M., Maki-Petays N., Hyytia E., Korkeala H.: Microbiological quality of Finnish vacuum-packaged fishery products at retail level. Archiv. Für Lebensmittelhygiene, 1998, 11/12, 49, 121-144.
- [13] Minczewski J., Marczenko Z.: Chemia analityczna. PWN. Warszawa 1987.
- [14] Paarup T., Ruiz-Capillas C., Morales J., Lopez E., Moral A.: „Gravad” type rainbow trout packed in vacuum and modified atmosphere: microbiological, biochemical and sensory aspects. Institut International du Froid, Paris (France). Refrigeration and Aquaculture. Bordeaux (France). Colloquium, proceedings of the conference of IIR Commission C2, March 1996, pp. 20-22.
- [15] Tham W., Ericsson H., Loncarevic S., Unnerstad H., Danielsson-Tham M.-L.: Lessons from an outbreak of listeriosis related to vacuum - packed gravad and cold - smoked fish. Int. J. Food Microbiol., 2000, 62, 173-175.

Praca była finansowana ze środków KBN w roku 2002 jako projekt badawczy 3P06T 005 23.

LISTERIA MONOCYTOGENES IN „GRAVAD” RAINBOW TROUT (ONCORHYNCHUS MYKISS)

S u m m a r y

Frequency of *Listeria monocytogenes* occurrence in rainbow trout obtained from retail outlets was evaluated in this paper. *Listeria spp.* was isolated from all samples purchased in fish departments of local shops and 50% of isolated forms it was *Listeria monocytogenes*. Fish collected directly from farms, in different time periods were free from this bacterium. In „gravad” fishes inoculated with *Listeria monocytogenes* to the level of 100 cfu/g of raw material, matured within 3 days at 3°C, and then stored during 4 weeks, the gradual death-rate of bacteria was observed. ~

Key words: *Listeria monocytogenes*, rainbow trout, gravad. ☒

ANNA MIKULAJOVÁ, MÁRIA TAKÁCSOVÁ, KITTI NÉMETH,
NATÁLIA RAŠOVÁ, SILVIA VOJTEKOVÁ

ANTIOXIDANT ACTIVITY OF WHEAT BRAN EXTRACT IN RAPESEED OIL

Summary

Lipids can undergo autooxidation leading to undesirable compounds formation. In an effort to retard the processes involved, various natural antioxidants are applied.

In our paper, the antioxidant activity of the ethanol extract from wheat bran on the oxidative stability of rapeseed oil was studied. The extract was added at the 0.1 and 0.3% vol. concentration.

The results of the peroxide and thiobarbituric acid values have shown that the wheat bran extract has an antioxidant effect. The inhibition effect in percentage was 34.4%, and 46% respectively for 0.1%, and 0.3% addition of wheat bran ethanol extract.

Total phenolics in wheat bran extract (0.08 mg TAE/g dry matter) were determined spectrometrically using Folin-Ciocalteu reagent and expressed as tannic acid equivalents (TAE).

Key words: lipid oxidation, antioxidant, wheat bran, rapeseed oil.

Introduction

Lipids are very important food components, however, they easily undergo autooxidation that leads to the formation of a number of undesirable compounds. Oxidation of lipids has a detrimental effect on sensorial, nutritional and hygienic value of food. In an effort to retard the processes involved, a wide range of antioxidants have been applied. An interest in using of antioxidants from natural sources to stabilise fat-containing foodstuffs has been increasing.

Many compounds of plant origin, such as from vegetables, fruits, spices, legumes, cereals, were tested for their antioxidant effects. Agricultural and industrial residues are also good sources of natural antioxidants. Grape and apple pomace, grape seeds,

cereal bran, wheat germ, peanut hulls, citrus peels, hulls from legumes, corn steep liquor, malt rootlet, olive mill waste waters were studied as low-cost source of antioxidant [1, 2, 4-13, 15, 17, 18].

Polyphenols are the major plant compounds with antioxidant activity [14]. Furthermore, tocopherols, tocotrienols, ascorbic acid, carotenoids have been reported as compounds with antioxidant effect.

In wheat bran, protocatechuic, *p*-hydroxybenzoic, gentisic, caffeic, vanillic, chlorogenic, syringic, *p*-coumaric and ferulic acids were identified. α - and β -tocopherol and phytic acid are also present. Approximately 80% of the *trans*-ferulic acid of the entire wheat grain was found in the bran [16].

The aim of our work was to study the antioxidant activity of the wheat bran ethanol extract on the oxidative stability of rapeseed oil.

Materials and methods

Substrate: commercially available rapeseed oil Raciol (Palma – Tumys, a.s. Bratislava).

Plant material: wheat bran purchased from Marianna, Ivánka pri Dunaji, Slovakia.

Extraction: twice, with 96.6% ethanol (1:10) under reflux in a water bath at 80°C for 1 hour, filtration, concentration under reduced pressure at 40°C.

Addition: wheat bran extract was added to oil samples (20 ml) at concentration 0.1 and 0.3% (vol.).

Storage: Schaal oven test: at 60°C in the dark under free access of air oxygen for 21 days. Rapeseed oil without additives was used as control.

Analyses: peroxide value and thiobarbituric acid values [3] were determined in duplicate on days 0, 4, 7, 10, 14, 17 and 21. Total phenolics in the extract obtained were determined spectrophotometrically using Folin-Ciocalteu reagent [19] and given as tannic acid equivalent (TAE).

Results and discussion

In general, the peroxide value increased during storage. The greatest increase in amount of the hydroperoxides was found in control sample. The peroxide values in the antioxidant treated samples were lower than in the samples without extract (Fig. 1).

The production of the primary oxidative products was slower in samples with extracts from the 4th day of storage onwards. It is to note that, the most intensive inhibition of oxidation started from 14th. After 21 days of storage the peroxide values of samples with addition of 0.1% and 0.3% wheat bran extract were lower compared to the control sample by 34.4% and 46.0%, respectively. The application of extract retarded the production of secondary products of oxidation (Fig. 2). After 21 days of

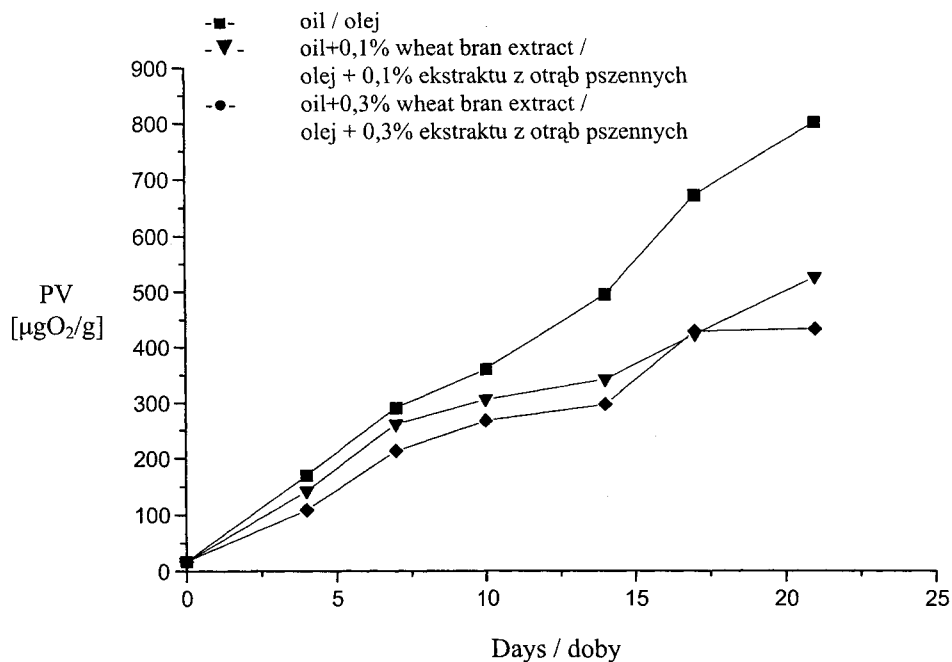


Fig. 1. Peroxide values (PV) [$\mu\text{g O}_2/\text{g oil}$] in rapeseed oil samples during storage.

Rys. 1. Wartości liczby nadtlenkowej w próbach oleju rzepakowego w trakcie przechowywania.

storage the thiobarbituric acid value of samples with addition of 0.1% and 0.3% wheat bran extract was lower than that of the control sample by 6.6%, and 5.0% respectively. The antioxidant activity of 0.3% addition of wheat bran extract was stronger than that of 0.1% addition of wheat bran extract. This is in accordance with a general trend – increased antioxidant activity is found with increasing extract concentration until the maximal concentration. The results indicate that extract acted as antioxidant in rapeseed oil and the extract was more effective in retarding of production of hydroperoxides i.e. acted as primary antioxidant.

The content of total phenolics in wheat bran extract was determined spectrometrically using Folin-Ciocalteu reagent and calculated as tannic acid equivalent (TAE). The amount of total phenolics was 0.08 mg TAE/g dry matter.

Conclusions

According to our experimental data, based on primary and secondary lipid oxidation products analyses, wheat bran ethanol extracts showed the antioxidant activity in

rapeseed oil.

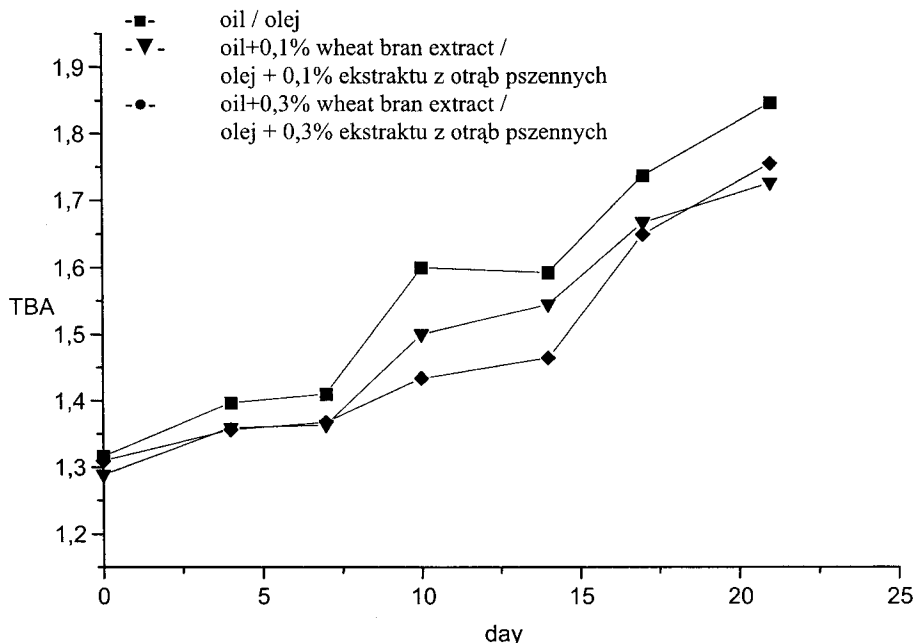


Fig. 2. Thiobarbituric acid values (TBA) ($A^{1\%}_{1cm}$) in rapeseed oil samples during storage.

Rys. 2. Wartości wskaźnika TBA ($A^{1\%}_{1cm}$) w próbach oleju rzepakowego, w trakcie przechowywania.

References

- [1] Ayed N., Yu H.-L., Lacroix M.: Using gamma irradiation for the recovery of anthocyanins from grape pomace. *Radiat. Phys. Chem.*, 2000, **57**, 277-279.
- [2] Bonnely S., Peyrat-Maillard M. N., Berset C., Masy D., Rondini C.: Antioxidant activity of malt rootlet extracts. *J. Agric. Fd Chem.*, 2000, **48**, 2785-2792.
- [3] Davídek J., Hrdlička J., Karvánek M., Pokorný J.: *Návody k laboratornímu cvičení z všeobecné analýzy potravin*. SNTL, Praha 1974.
- [4] Deguchi T., Ohba R., Ueda S.: Radical scavenging activity of a purple pigment hordeumin, from uncooked barley bran-fermented broth. *J. Agric. Fd Chem.*, 2000, **48**, 3198-3201.
- [5] Devittori C., Gumy D.: Supercritical fluid extraction of oil from millet bran. *J. Amer. Oil Chem. Soc.*, 2000, **77**, 573-579.
- [6] Duh P.-D., Yen G.-Ch.: Antioxidant efficacy of methanolic extracts of peanut hulls in soybean and peanut oils. *J. Amer. Oil Chem. Soc.*, 1997, **74**, 745-748.
- [7] Duh P.-D., Yen W. J., Du P.-Ch., Yen G.-Ch.: Antioxidant activity of mung bean hulls. *J. Amer. Oil Chem. Soc.*, 1997, **74**, 1059-1063.
- [8] Emmons Ch. L., Peterson D. M.: Antioxidant activity and phenolic contents of oat groats and hulls. *Cereal Chem.*, 1999, **76**, 902-906.

- [9] Jayaprakasha G. K., Singh R. P., Sakariah K. K.: Antioxidant activity of grape seed (*Vitis vinifera*) extracts on peroxidation models in vitro. *Fd Chem.*, 2001, **73**, 285-290.
- [10] Kim J.-S., Godber J. S.: Oxidative stability and vitamine E levels increased in restructured beef roasts with added rice bran oil. *J. Fd Qual.*, 2001, **24**, 17-26.
- [11] Krings U., El-Saharty Y. S., El-Zeany B. A., Pabel B., Berger R. G.: Antioxidant activity of extracts from roasted wheat germ. *Fd Chem.*, 2000, **71**, 91-95.
- [12] Larrauri J.A., Rupérez P., Bravo L., Saura-Calixto F.: High dietary fibre powders from orange and lime peels: associated polyphenols and antioxidant capacity. *Fd Res. Int.*, 1996, **29**, 757-762.
- [13] Lu Y., Foo L.Y.: Identification and quatification of major polyphenols in apple pomace. *Fd Chem.*, 1997, **59**, 187-194.
- [14] Moure A., Cruz J. M., Franco D., Dominguez J. M., Sineiro J., Domínguez H., Núñez M. J., Parajó J. C.: Natural antioxidants from residual sources. *Fd Chem.*, 2001, **72**, 145-171.
- [15] Niwa T., Doi U., Kato Y., Osawa T.: Antioxidant properties of phenolic antioxidants isolated from corn steep liquor. *J. Agric. Fd Chem.*, 2001, **49**, 177-182.
- [16] Onyeneho S. N., Hettiarachy N. S.: Antioxidant activity of durum wheat bran. *J. Agric. Fd Chem.*, 1992, **40**, 1496-1500.
- [17] Visioli F., Romani A., Mulinacci N., Zarini S., Conte D., Vincieri F.F., Galli C.: Antioxidant and other biological activities of olive mill waste waters. *J. Agric. Fd Chem.*, 1999, **47**, 3397-3401.
- [18] Watanabe M., Oshita Y.: Antioxidant compounds from buckwheat (*Fagopyrum escelentum Möench*) hulls. *J. Agric. Fd Chem.*, 1997, **45**, 1039-1044.
- [19] Yu L., Haley S., Perret J., Harris M., Wilson J., Qian M.: Free radical scavenging properties of wheat extracts. *J. Agric. Fd Chem.*, 2002, **50**, 1619-1624.


WŁAŚCIWOŚCI PRZECIWUTLENIAJĄCE WYCIĄGU Z OTRĄB PSZENNICH W STOSUNKU DO OLEJU RZEPAKOWEGO

Streszczenie

Tłuszcze ulegają autoutlenieniu prowadzącemu do tworzenia niepożądanych związków. W celu opóźnienia tych procesów stosuje się różne naturalne przeciwutleniacze.

Badano właściwości przeciwutleniające etanolowego ekstraktu z otrąb pszennych na stabilność oksydacyjną oleju rzepakowego. Ekstrakt dodawano w ilości 0,1 i 0,3% (v/v). Wyniki oznaczeń liczby nad-tlenkowej i wskaźnika TBA wskazują, że ekstrakt z otrąb pszennych wywierał wpływ przeciwutleniający. Działanie hamujące wynosiło 34,4% przy 0,1% dodatku etanolowego ekstraktu otrąb pszennych, a 46% przy 0,3% dodatku tego ekstraktu.

Ogólna zawartość fenoli w ekstrakcie z otrąb pszennych, oznaczona spektrofotometrycznie przy użyciu odczynnika Folina-Ciocalteu i podana jako równoważnik kwasu tanninowego (TAE) wyniosła 0,08 mg TAE/g s.m.

Słowa kluczowe: utlenianie tłuszczów, przeciwutleniacz, otręby pszenne, olej rzepakowy. 

KITTI NÉMETH, MÁRIA TAKÁCSOVÁ, MARIUSZ K. PISKUŁA

FLAVONOID METABOLISM IN HUMAN

Summary

Flavonoids are polyphenolic secondary plant metabolites with a wide range of biological activities. There is an increasing awareness of the role of flavonoids as epidemiological studies suggest that consumption of flavonol- and isoflavone-rich diets may decrease the risk of developing coronary heart disease and certain cancers.

Apart from some fermented foods and tea, where flavonoid aglycones are present, most of the dietary flavonoids are O-glycosides, mainly with D-glucose and in this form are ingested.

As a rough estimate, the total daily intake of polyphenols is between 150 and 1000 mg.

The paper is focused on the flavonoid (especially quercetin-related) metabolism. The processes involved are deglycosylation, transfer into enterocytes, glucuronidation, transport to liver via hepatic vein, or resecretion into intestinal lumen, further conjugation reactions in liver, enterohepatic recirculation, biliary and urinary excretion, metabolism by colonic microflora.

Key words: flavonoids, quercetin, absorption, metabolism, secretion.

Introduction

Flavonoids are polyphenolic secondary plant metabolites with a wide range of biological activities. There is an increasing awareness of the physiological role of flavonoids in human as epidemiological studies suggest that consumption of flavonoid-rich diets may decrease the risk of developing coronary heart disease and certain cancers. Apart from some fermented foods as tempeh, wine and tea, where flavonoid aglycones are present, most of dietary flavonoids are O-glycosides, mainly with D-glucose and in this form are ingested.

Ing. K. Németh^{1,2}, Doc. Ing. M. Takácsová, PhD.¹, dr hab. inż. M.K. Piskula²

¹*Dept. of Nutrition and Food Assessment, Faculty of Chemical and Food Technology, Slovak University of Technology, Radlinského 9, 812 37 Bratislava, Slovak Republic*

²*CENEXFOOD, Institute of Animal Reproduction & Food Research, Polish Academy of Sciences, Tuwima 10, 10-747 Olsztyn, Poland*

As a rough estimate, the total daily intake of polyphenols is between 150 and 1000 mg [1]. However, the wide range of results is due to diversity of dietary habits and methodology of estimation applied. Out of all dietary flavonoids quercetin is one of the consumed in the highest amounts. From different foods onions are especially rich in quercetin. Most commonly consumed yellow varieties contain quercetin glucosides in amounts about 600 mg/kg expressed as free quercetin.

Once ingested, food has to undergo a number of processes within alimentary tract leading to absorption of spectrum of its components. Part of them, with flavonoids, accounted to xenobiotics when absorbed are subjects to intensive multi-step metabolism significantly changing their physiological properties.

Alimentary tract

The epithelium-lined alimentary tract can be conceptualised as a tunnel through the body, and the wall of the alimentary canal as the interface between the external environment and the circulatory system [5]. To enter the body, the nutrient requires to traverse the epithelium.

There are several factors affecting flavonoid absorption, like the presence or absence of glycosylation on hydroxyl groups, quality of sugar moiety attached, plant/food matrix, interactions with food components, micelles, and emulsifiers. The tissue distribution of β -glucosidases, enzymes hydrolysing flavonoid glucosides, affects the site of flavonoid uptake, too.

Oral cavity

β -Glucosidases in the mouth can be of endogeneous and/or microbial origin. Although flavonoid deglycosylation in saliva is unlikely and has not been reported yet, phenolics can undergo oxidation in the oral cavity.

Stomach

Non-enzymatic deglycosylation of flavonoids in the body, such as gastric acid hydrolysis, does not occur. Piskula *et al.* [14] and Crespy *et al.* [2] reported rapid absorption of flavonoid aglycone from rat stomach after its in situ administration. Related glucosides, were not deglycosylated nor absorbed either in this experiment. Contrary to the above findings, partial flavonoid deglycosylation was reported [13] to occur in rat stomach after flavonoid glycosides (of quercetin, kaempferol, isorhamnetin, apigenin, luteolin and chrysoeriol) were administered in aqueous suspension, extracted from parsley. This was probably due to β -glucosidase activity of bacteria colonising the rat forestomach. Human deglycosylation has not been reported.

Small intestine

The epithelium of the small intestine is located at a strategic interface as the intestinal lumen is in continuity with the external environment [5]. Compound/Material absorbed from the lumen must first traverse the epithelium to access mucosal blood, then is carried to liver with portal blood. Except the cells lining the gastrointestinal tract, all other cells of the body are only exposed to flavonoid metabolites and degradation products. Flavonoids probably pass into small intestine as glycosides. Here they can undergo either luminal deglycosylation catalysed by membrane-bound enzymes as lactase-phlorizin hydrolase [11] or enter the enterocytes in form of glycosides requiring active transport [6] followed by intracellular hydrolysis by e.g. broad-specificity cytosolic β -glucosidase [3]. Flavonoids liberated in the lumen can pass into enterocytes via passive diffusion. Once absorbed, flavonoids are conjugated to glucuronide, sulphate and/or methyl groups mainly in jejunal and ileal enterocytes. The transferases responsible for conjugation are UDP-glucuronyltransferases (UGT; EC 2.4.1.17) and phenolsulfotransferases (PST; EC 2.8.2.1). Methylation is catalysed by catechol O-methyltransferases (COMT; EC 2.1.1.3).

Major products of small intestinal epithelial cell metabolism, quercetin-3- and quercetin-7-glucuronides were shown to be further processed using HepG2 hepatic cell model. One pathway seems to be methylation of catechol moiety of both quercetin glucuronides resulting in 3'-methylquercetin- and 4'-methylquercetin- glucuronides. The other way is deglucuronidation with subsequent sulfation in 3'-position [12].

Colon

Colon is heavily colonised by microorganisms ($\sim 10^{12}/\text{cm}^3$) with enormous catalytic and hydrolytic potential. Flavonoids from food neither absorbed in stomach nor in small intestine and flavonoid metabolites previously absorbed and excreted with bile back to duodenum are propelled to colon. Reaching the colon, they are subject to deglycosylation and deconjugation by colonic bacteria, and are cleaved giving rise to ring fission products, such as phenylacetic, phenylpropionic acids and valerolactones.

Liver

Compounds absorbed from intestines enter the liver via portal vein. Once in the liver, the absorbed substances are removed from the blood by the liver parenchymal cells. The body treats flavonoids as xenobiotics, therefore they are subjected to Phase I (introduction of polar functional groups e.g. -OH) and Phase II (conjugation) biotransformations. Reactions leading to conjugate formation facilitate their clearance and limit their potential toxicity. Recently, a third class of metabolites has also been recognised, namely xenobiotic-macromolecule adducts, also called macromolecular conju-

gates. Due to aromatic nucleus and hydroxyl substituents, flavonoids have a great affinity for proteins, particularly for albumin. Binding of quercetin to human albumin was 70–80% [8]. Another possible way of quercetin intracellular detoxification could be their conjugation with glutathione in 2'-position [15]. Conjugates are eliminated from the liver either with the bile, the gallbladder squirts the bile into duodenum, or renally, i.e., with the blood and urine.

Plasma

Non-conjugated flavonoids are virtually absent from plasma. Day *et al.* [4] have detected quercetin-3-glucuronide, 3'-methyl-quercetin-3-glucuronide and quercetin-3'-sulphate as major conjugates in human plasma 1.5 hr after onion consumption. A further quercetin conjugate as quercetin-4'-glucuronide [9]. Wittig *et al.* detected five quercetin glucuronides but no sulfates in plasma 1h after onion consumption using HPLC-UV-MS/MS [16].

Up to now, there has not been reported any accumulation of quercetin in any tissue – as shown in an experiment with radiolabelled quercetin. The highest radioactivity was found in kidney (perhaps due to their concentration by water reabsorption), lower in liver and blood [7]. Similarly, 60 min after orally administered [^{14}C]quercetin-4'-glucoside to rats, almost 94% of the recovered radioactivity was still in the pool of stomach, small and large intestines with their contents (denoted as intestine pool) [10]. Also, little is known about the biological activities of low molecular weight ring-fission products.

Conclusion

An attractive hypothesis is that vegetables and fruits contain compounds that have a protective effect for human health, and flavonoids are serious candidates. Within the body, these compounds are extensively metabolised. Therefore, it is important to study the quality, levels, location and biological effects of the arising products.

Literature

- [1] Aherne S.A., O'Brien N.M.: Dietary flavonols: Chemistry, food content, and metabolism. *Nutr.*, 2002, **18**, 75-81.
- [2] Crespy V., Morand C., Besson C., Manach C., Demigne C., Remesy C.: Quercetin, but not its glycosides, is absorbed from the rat stomach. *J. Agric. Food Chem.*, 2002, **50**, 618-621.
- [3] Day A.J., Dupont M.S., Ridley S., Rhodes M., Rhodes M.J.C, Morgan M.R.A., Williamson G.: Deglycosylation of flavonoid and isoflavonoid glycosides by human small intestine and liver beta-glucosidase activity. *FEBS Lett.*, 1998, **436**, 71-75.
- [4] Day A.J., Mellon F., Barron D., Sarrazin G., Morgan M.R., Williamson G.: Human metabolism of dietary flavonoids: Identification of plasma metabolites of quercetin. *Free Rad. Res.*, 2001, **35**, 941-952.
- [5] DeSesso J.M., Jacobson C.F.: Anatomical and physiological parameters affecting gastrointestinal absorption in humans and rats. *Food Chem. Toxicol.*, 2001, **39**, 209-228.

- [6] Gee J.M., DuPont M.S., Rhodes M.J., Johnson I.T.: Quercetin glucosides interact with the intestinal glucose transport pathway. *Free Rad. Biol. Med.*, 1998, **25**, 19-25.
- [7] Hollman P.C., Katan M.B.: Absorption, metabolism, and bioavailability of flavonoids. W: *Flavonoids in health and disease* – pod red. C.A. Rice-Evans i L. Parker. Marcel Dekker, New York 1998, 483-522.
- [8] Lembke B., Kinawi A., Wurm G.: Binding von Quercetin sowie einiger seiner O- β -Hydroxyethyl-derivate an Humanserumalbumin. *Arch. Pharm.*, 1994, **327**, 467-468.
- [9] Moon J.H., Tsushida T., Nakahara K., Terao J.: Identification of quercetin 3-O- β -D-glucuronide as an antioxidative metabolite in rat plasma after oral administration of quercetin. *Free Rad. Biol. Med.*, 2001, **30**, 1274-1285.
- [10] Mullen W., Graf B.A., Caldwell S.T., Hartley R.C., Duthie G.G., Edwards C.A., Lean M.E., Crozier A.: Determination of flavonoid metabolites in plasma and tissues of rats by HPLC-radiocounting and tandem mass spectrometry following oral ingestion of [2-¹⁴C]quercetin-4'-glucoside. *J. Agric. Food Chem.*, 2002, **50**, 6902-6909.
- [11] Németh K., Plumb G.W., Berrin J.G., Juge N., Jacob R., Naim H.Y., Williamson G., Swallow D.M., Kroon P.A.: Deglycosylation by small intestinal epithelial cell beta-glucosidases is a critical step in the absorption and metabolism of dietary flavonoid glycosides in humans. *Eur. J. Nutr.*, 2003, **42**, 29-42.
- [12] O'Leary K.A., Day A.J., Needs P.W., Sly W.S., O'Brien N.M., Williamson G.: Flavonoid glucuronides are substrates for human liver β -glucuronidase. *FEBS Lett.*, 2001, **503**, 103-106.
- [13] Pforte H., Hempel J., Jacobasch G.: Distribution pattern of a flavonoid extract in the gastrointestinal lumen and wall of rats. *Nahrung*, 1999, **43**, 205-208.
- [14] Piskula M.K., Yamakoshi J., Iwai Y.: Daidzein and genistein but not their glucosides are absorbed from the rat stomach. *FEBS Lett.*, 1999, **447**, 287-291.
- [15] Spencer J.P., Kuhnle G.G., Williams R.J., Rice-Evans C.: Intracellular metabolism and bioactivity of quercetin and its in vivo metabolites. *Biochem. J.*, 2003, **372**, 173-181.
- [16] Wittig J., Herderich M., Graefe E.U., Veit M.: Identification of quercetin glucuronides in human plasma by high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *J. Chromatogr. B*, 2001, **753**, 237-243.

METABOLIZM FLAWONOIDÓW U LUDZI

Streszczenie

Flawonoidy to drugorzędowe metabolity roślin o szerokim zakresie aktywności biologicznej. W ostatnim czasie zainteresowanie nimi znacznie wzrosło, zwłaszcza po tym jak rezultaty badań epidemiologicznych zaczęły wskazywać, że dieta bogata we flawonoidy może być elementem profilaktyki choroby niedokrwiennej serca i niektórych chorób nowotworowych. Oprócz niektórych spożywczych produktów fermentowanych i herbaty zielonej, w których związki te występują w formie aglikonów, większość flawonoidów zawartych w diecie pochodzenia roślinnego to glikozydy, głównie O-glikozydy. Szacuje się, że dzienne spożycie tych związków zawiera się w szerokim zakresie od 150 do 1000 mg.

W artykule skupiono się głównie na metabolizmie kwercetyny, opisując przemiany jakim ulegają flawonoidy w organizmie człowieka. Procesy związane z tymi przemianami to deglikozyłacja, przeniesienie do enterocytów, glukuronizacja, transport do wątroby poprzez żyłę wątrobową lub zwrotne wydzielanie do światła jelita oraz dalsze sprzężone reakcje w wątrobie, cyrkulacja wątrobowa, wydalanie z żółcią, moczem lub przez jelito grube.

Słowa kluczowe: flawonoidy, kwercetyna, wchłanianie, metabolizm, wydzielanie. ☒

AGNIESZKA PAULO, MAREK CIERACH

STABILNOŚĆ PRZECHOWALNICZA KIELBAS PARZONYCH Z DODATKIEM FOSFORANU DWUSKROBIOWEGO (SKRONET)

Streszczenie

Celem pracy było określenie wpływu dodatku fosforanu dwuskrobiowego (skronet) do drobno rozdronionych kielbas parzonych na zawartość wody w gotowym produkcie, zdolność utrzymywania wody, a także teksturę i barwę gotowych wyrobów.

Na podstawie wykonanych badań stwierdzono, że dodatek skrobi modyfikowanej wpływa istotnie na wzrost zawartości wody w gotowym produkcie, co skutkuje zwiększeniem wydajności gotowych produktów. W czasie przechowywania obserwowano spadek wiązania i utrzymywania wody wolnej. Stwierdzono również, że skrobia modyfikowana wpływała na teksturę gotowych wyrobów, które były mniej twarde, gumowate i zuwalne. Nie zanotowano istotnego wpływu dodatku skrobi na barwę gotowych wyrobów.

Słowa kluczowe: skrobia modyfikowana, kielbasa, tekstura, barwa, właściwości hydratacyjne.

Wstęp

Przetwory mięsne pochodzenia zwierzęcego o znacznej zawartości tłuszczu zawierają zbyt dużo nasyconych kwasów tłuszczowych i cholesterolu. Nadmierne spożycie tego rodzaju produktów może powodować wzrost poziomu cholesterolu w surowicy krwi i wpływać na powstawanie miażdżycy naczyń krwionośnych oraz zwiększać ryzyko zawału serca [1]. Technologiczna metoda obniżania zawartości tłuszczu mięsa zmusza do wprowadzenia w jego miejsce ilościowych zamienników, jakimi w produktach mięsnych są głównie woda i substancje, które pozwalają na lepsze wiązanie i utrzymanie wody w produkcie [9, 13]. Jednakże ograniczenie lub całkowite wyeliminowanie tłuszczu ze składu recepturowego wyrobów mięsnych kutrowanych parzonych, a więc przede wszystkim z zestawu surowcowego kielbas oraz przetworów podrobowych, przysparza problemów technologicznych. Surowce tłuszczowe mają bowiem ogromne znaczenie funkcjonalne, gdyż kształtują m.in. teksturę, soczystość i

smarowność oraz są nośnikami smakowości [6, 8, 16]. Zmniejszenie zawartości tłuszczu w składzie surowcowym kiełbas drobno rozdrobnionych powoduje wyraźne pociemnienie barwy przetworzonych produktów mięsnych. Stają się one ponadto mniej soczyste, suche lub „trociniowate” i charakteryzują się twardą, zwięzłą lub gumowatą strukturą [15]. W celu wyeliminowania tych wad wprowadza się do żywności nowe składniki, tzw. zamienniki lub substytuty tłuszczu [19]. Najczęściej stosowanymi zamiennikami tłuszczu są hydrokoloidy, które stanowią ważną grupę teksturotwórczych składników żywności [14]. Jednym z hydrokoloidów, których stosowanie w wysoko wydajnych technologiach stanowi przedmiot coraz większego zainteresowania jest skrobia [11].

Skrobie modyfikowane odgrywają ważną rolę w przemyśle spożywczym [7]. Wynika to z ich właściwości, a mianowicie zdolności do zagęszczania przez zwiększenie lepkości pozornej, żelowania przez zmianę stanu płynnego w stały i stabilizacji umożliwiającej utrzymanie tej struktury [4]. Dodatek skrobi nadaje produktom odpowiednią teksturę, wygląd, wilgotność, konsystencję i trwałość podczas przechowywania [20]. Celem jej stosowania jest również obniżenie kaloryczności i ceny gotowych produktów [12]. W związku z tym odpowiedni dobór danego rodzaju skrobi jest bardzo ważny, gdyż wpływa ona na ostateczną jakość produktu [2].

Celem pracy było określenie wpływu dodatku skrobi modyfikowanej skronet (fosforan dwuskrobiowy) na stabilność właściwości hydratacyjnych, barwy i tekstury kiełbas parzonych drobno rozdrobnionych podczas przechowywania.

Materiał i metody badań

Surowcem do produkcji kiełbas było mięso wieprzowe i wołowe w stosunku 2:1, które peklowano metodą „na sucho” z dodatkiem 2,3% mieszanki peklującej przez 24 h w temp. 4°C. Surowce rozdrabniano w wilku laboratoryjnym przez siatkę o średnicy oczek 5 mm (wieprzowina) i 3 mm (wołowina). Rozdrobnione mięso wołowe kutrowano z dodatkiem 30% wody, mieszano z mięsem wieprzowym, a następnie dzielono na części. Do jednej z nich dodano fosforan dwuskrobiowy o nazwie handlowej skro-net w ilości 3%, druga stanowiła wariant kontrolny. Z tak przygotowanych farszów formowano batony, które poddawano procesowi parzenia w temp. 83°C do osiągnięcia wewnątrz batonu temp. 68°C. Po wychłodzeniu oznaczano wydajność gotowych wyrobów, a następnie kiełbasy każdego z wariantów dzielono na cztery części. Jedna część służyła do oznaczeń bezpośrednio po produkcji, a pozostałe części pakowano próżniowo i przechowywano w temp. 4°C, a następnie poddawano ocenie fizykochemicznej po 7, 14 i 21 dniach przechowywania. Oznaczano zawartości wody metodą suszarkową w temperaturze 105°C, zawartość wody wolnej i dodanej metodą Grau'a – Hamma [10, 17]. Przeprowadzono także instrumentalny pomiar parametrów tekstury

za pomocą analizatora tekstury, typ TA-XT2i. W tym celu próbki w kształcie walca o średnicy 12,6 mm i wysokości 10 mm poddawano podwójnemu ścisnieniu do 50% odkształcenia. Prędkość ruchu głowicy wynosiła 5 mm/s.

Tabela 1

Zawartość wody w drobno rozdrobnionych kielbasach parzonych.
Water percentage in comminuted scalded sausages.

Rodzaj dodatku Type of ingredient added	Czas przechowywania [doby] / Storage period [days]			
	0	7	14	21
Woda ogólna / Total Water Content [%]				
Kontrolna (bez dodatku) / Control sample (no addition)	65,30 ^{aA}	64,08 ^{aA}	65,71 ^{aA}	63,31 ^{aA}
Skronet	70,12 ^{bA}	67,21 ^{aB}	67,60 ^{aB}	65,97 ^{aB}
Woda wolna / Free Water [%]				
Kontrolna (bez dodatku) / Control sample (no addition)	29,84 ^{aA}	26,82 ^{aB}	27,17 ^{aB}	27,06 ^{aB}
Skronet	21,31 ^{bA}	27,17 ^{aB}	29,48 ^{bC}	28,07 ^{bD}

a, b – wartości średnie oznaczone w kolumnach w obrębie tego samego wyróżnika różnymi literami różnią się statystycznie istotnie ($\alpha = 0,05$).

a, b – mean values in the columns, which are denoted by the same letters, significantly differ at a level of $\alpha = 0,05$.

A, B, C, D – wartości średnie oznaczone w wierszach w obrębie tego samego wyróżnika różnymi literami różnią się statystycznie istotnie ($\alpha = 0,05$).

A, B, C, D – mean values in the lines, which are denoted by the same capital letters, significantly differ at a level of $\alpha = 0,05$.

Określano następujące parametry tekstury: twardość I i II (maksymalna siła potrzebna do pierwszego i drugiego ściśnięcia próbki), sprężystość, kohezynność, gumowatość i żuwalność. Bezpośrednio po produkcji oraz po 21 dniach przechowywania dokonano również pomiaru parametrów barwy i jej stabilności w czasie 6-godz. naświetlania. W tym celu próbki naświetlano w temp. $20 \pm 2^\circ\text{C}$ światłem jarzeniowym o natężeniu 500 lux. Pomiarów dokonywano metodą odbiciową za pomocą aparatu Spectrocolor, sprzężonego z komputerem. Określano następujące parametry barwy: L^* – jasność, a^* – czerwoność i b^* – żółtość w systemie CIE.

Wyniki i dyskusja

Na podstawie uzyskanych wyników stwierdzono, że dodatek skrobi modyfikowanej wpłynął istotnie na zwiększenie wydajności gotowych wyrobów. Wydajność kiełbasy kontrolnej (bez dodatku skrobi) wyniosła 84,86% i była niższa o około 13% od wydajności kiełbasy z dodatkiem skrotonu (97,68%). Otrzymane wyniki świadczą o bardzo dobrych właściwościach wiążących tej skrobi. Podobne zależności uzyskał Dolata [5], który w swoich badaniach nad dodatkiem różnych preparatów skrobi modyfikowanych do farszów wędlin drobno rozdrobnionych wykazał, że wydajność produkcyjna tych wyrobów, w stosunku do wędliny kontrolnej, zwiększyła się o 15–25%.

Dodatek skrotonu wpłynął istotnie na wzrost zawartości wody w gotowym produkcie. W pomiarach dokonanych bezpośrednio po produkcji, zawartość wody w kiełbasie z dodatkiem skrobi modyfikowanej wyniosła 70,12% i była wyższa o ok. 5% od wartości uzyskanej w kiełbasie kontrolnej (65,30%) (tab. 1). Podobne zależności uzyskał Shehata [18], który badał wpływ dodatku skrobi modyfikowanej do kiełbas parzonych i stwierdził, że w miarę dodatku tych hydrokoloidów wzrastała zawartość wody w gotowych wyrobach.

W czasie przechowywania odnotowano spadek wiązania wody przez skrobię modyfikowaną. Po 21 dniach przechowywania kiełbasa z dodatkiem skrotonu zawierała 65,97% wody, jednak była to wartość wyższa od uzyskanej w kiełbasie kontrolnej (63,31%), przechowywanej w tym samym czasie.

Dobre właściwości wiążące skrobi znalazły potwierdzenie w oznaczaniu zawartości wody wolnej w gotowych wyrobach. W kiełbasie z dodatkiem skrotonu zawartość wody wolnej, oznaczona bezpośrednio po produkcji, wyniosła 21,31% i była niższa o około 8% od wartości oznaczonej w wyrobie bez dodatku skrobi (29,84%) (tab. 1). Jednakże podczas przechowywania stwierdzono spadek wiązania i utrzymywania wody wolnej świadczący o retrogradacji i synerezie skrobi w układzie farszu kiełbas. W 21. dniu przechowywania zawartość wody wolnej w kiełbasie z dodatkiem skrotonu wzrosła do 28,07% i była wyższa od zawartości wody w kiełbasie kontrolnej, w której po 21 dniach przechowywania oznaczono 27,06% wody wolnej.

Dodatek skrobi modyfikowanej wpłynął istotnie na teksturę gotowego wyrobu. Kiełbasy z dodatkiem skrotonu charakteryzowały się niższą twardością I w porównaniu z kiełbasami kontrolnymi. Twardość I wyrobu z dodatkiem skrobi modyfikowanej zmierzona podczas pierwszego ściskania, a oznaczona bezpośrednio po produkcji wyniosła 9,96 N, a wyrobu kontrolnego 10,74 N (tab. 2). W czasie przechowywania wartości te wzrastały, zarówno w przypadku kiełbasy z dodatkiem skrotonu, jak i kiełbasy kontrolnej i wyniosły odpowiednio 11,49 N i 13,20 N. Takie same zależności uzyskano podczas drugiego ściskania, jednakże wartości były niższe, co spowodowane było uszkodzeniem struktury próbki podczas pierwszego ściskania.

Tabela 2

Tekstura drobno rozdrobnionych kiełbas parzonych.
Texture of finely comminuted scalded sausages.

Rodzaj dodatku Type of ingredient added	Czas przechowywania [doby] / Storage period [days]			
	0	7	14	21
Twardość I [N] / Hardness I [N]				
Kontrolna (bez dodatku) / Control sample (no ingredient added)	10,74 ^{aA}	13,84 ^{aB}	12,40 ^{aC}	13,20 ^{aB}
Skronet	9,96 ^{bA}	13,72 ^{aB}	12,46 ^{aC}	11,49 ^{bC}
Twardość II [N] - Hardness II [N]				
Kontrolna (bez dodatku) / Control sample (no ingredient added)	8,07 ^{aA}	10,39 ^{aB}	9,46 ^{aC}	10,03 ^{aBC}
Skronet	7,17 ^{bA}	9,76 ^{bB}	9,24 ^{aC}	8,46 ^{bD}
Sprężystość / Springiness				
Kontrolna (bez dodatku) / Control sample (no ingredient added)	0,80 ^{aA}	0,80 ^{aA}	0,83 ^{aA}	0,83 ^{aA}
Skronet	0,84 ^{aA}	0,84 ^{aA}	0,89 ^{aA}	0,87 ^{aA}
Kohezjność / Cohesiveness				
Kontrolna (bez dodatku) / Control sample (no ingredient added)	0,41 ^{aA}	0,42 ^{aA}	0,44 ^{aAB}	0,46 ^{aB}
Skronet	0,38 ^{bA}	0,39 ^{bAB}	0,42 ^{aBC}	0,44 ^{aC}
Gumowatość / Gumminess				
Kontrolna (bez dodatku) / Control sample (no ingredient added)	4,44 ^{aA}	5,76 ^{aBC}	5,55 ^{aB}	6,21 ^{aC}
Skronet	3,78 ^{bA}	5,19 ^{bB}	5,27 ^{aB}	5,02 ^{bB}
Żuwalność / Chewiness				
Kontrolna (bez dodatku)	3,55 ^{aA}	4,55 ^{aB}	4,67 ^{aB}	5,27 ^{aC}
Skronet	3,16 ^{bA}	4,32 ^{aB}	4,70 ^{aC}	4,36 ^{bB}

Oznaczenia jak w tab. 1 / Denotation as in Tab. 1.

Dodatek skrobi do kiełbas drobno rozdrobnionych również wpłynął na zmniejszenie twardości II gotowych wyrobów. W pomiarach dokonanych bezpośrednio po produkcji twardość II kiełbasy z dodatkiem skronetu wyniosła 7,17 N a kiełbasy kontrolnej 8,65 N. Po 21 dniach przechowywania wartości te wzrosły do poziomu 8,46 N

w kiełbasie z dodatkiem skrobi i 10,03 N w kiełbasie kontrolnej. Podobne zależności uzyskali w swoich badaniach Claus i Hunt [3], u których dodatek skrobi modyfikowanej do kiełbas z mięsa wołowego powodował istotny spadek twardości gotowych wyrobów w porównaniu z kiełbasą kontrolną z 30% dodatkiem tłuszczu.

Nie stwierdzono wpływu dodatku skrobi modyfikowanej na sprężystość i kohezję gotowych wyrobów. Sprężystość kiełbasy z dodatkiem skronetu, oznaczona bezpośrednio po produkcji, wyniosła 0,84, a kiełbasy kontrolnej 0,80 (tab. 2). Po 21 dniach przechowywania wartości te nieznacznie wzrosły i wyniosły odpowiednio 0,87 i 0,83. Kohezję kiełbasy z dodatkiem skronetu wyniosła 0,38, a kiełbasy kontrolnej (w pomiarach dokonanych bezpośrednio po produkcji) 0,41. W czasie przechowywania wartości te również nieznacznie wzrosły do poziomu 0,44 (kiełbasa z dodatkiem skronetu) i 0,46 (kiełbasa kontrolna).

Na podstawie otrzymanych wyników stwierdzono, że dodatek skrobi modyfikowanej wpłynął istotnie na zmniejszenie gumowatości i żuwalności gotowych wyrobów (tab. 2). Wartość gumowatości kiełbasy kontrolnej oznaczona bezpośrednio po produkcji wyniosła 4,44 i w czasie przechowywania wzrosła do poziomu 6,21. Kiełbasy z dodatkiem skronetu były mniej gumowate w porównaniu z kiełbasą kontrolną. Wartość gumowatości oznaczona bezpośrednio po produkcji wyniosła 3,78 a po 21 dniach przechowywania wzrosła do wartości 5,03.

Dodatek skrobi modyfikowanej nie wpłynął znacząco na zmiany jasności barwy gotowych wyrobów. Wartość jasności L^* kiełbasy z dodatkiem skronetu oznaczona bezpośrednio po produkcji wyniosła 51,97 i była nieznacznie niższa od jasności kiełbasy kontrolnej (53,48). W czasie 6-godz. naświetlania parametry te wzrosły zarówno w kiełbasie z dodatkiem funkcjonalnym, jak i w kiełbasie kontrolnej i wyniosły odpowiednio 53,50 i 54,51 (tab. 3). Na podstawie uzyskanych wyników nie stwierdzono znaczących zmian jasności gotowych wyrobów w czasie przechowywania. Wartość L^* kiełbas oznaczona bezpośrednio po przekrojeniu plastra w 21. dniu przechowywania wyniosła 53,28 w przypadku kiełbasy z dodatkiem skronetu i 52,57 w kiełbasie kontrolnej. W czasie naświetlania wartości te nieznacznie zmalały i uzyskały odpowiednio wartości 52,66 i 52,57.

Udział barwy czerwonej w kiełbasie z dodatkiem skronetu w pomiarze dokonanym bezpośrednio po produkcji wyniósł 11,02, a kiełbasy kontrolnej – 11,22. W czasie 6-godz. naświetlania odnotowano gwałtowny spadek udziału barwy czerwonej w obu wyrobach. Czerwość a^* kiełbasy z dodatkiem hydrokoloidu wyniosła 5,60, a kiełbasy kontrolnej 5,67 (tab. 3). Podobnie jak podczas oznaczeń wykonanych bezpośrednio po produkcji, tak i po 21 dniach przechowywania czerwość a^* gotowych wyrobów oznaczona po przekrojeniu plastra osiągnęła najwyższe wartości, które wyniosły 10,96 w kiełbasie z dodatkiem skrobi i 11,06 w kiełbasie kontrolnej. Naświetlanie 6-godz. spowodowało spadek udziału barwy czerwonej. Czerwość gotowych wyrobów

kształtowała się na poziomie 6,28 (kiełbasa z dodatkiem funkcjonalnym) i 6,12 (kiełbasa kontrolna) (tab. 3).

Żółtość b* gotowych wyrobów oznaczona bezpośrednio po produkcji osiągnęła wartości 15,52 w kiełbasie z dodatkiem skronetu i 15,18 w kiełbasie kontrolnej. W czasie naświetlania wartości te wzrosły o około 3 jednostki i wyniosły odpowiednio 17,95 w wyrobie z dodatkiem skrobi modyfikowanej i 18,24 w kiełbasie kontrolnej (tab. 3). Po 21 dniach przechowywania, w pomiarze dokonany bezpośrednio po przekrojeniu plastra udział barwy żółtej wahał się w granicach od 15,13 w kiełbasie z dodatkiem skronetu do 15,55 w kiełbasie kontrolnej. Po 6 godz. naświetlania wartości te wzrosły do 17,25 (kiełbasa ze skronetem) i 18,07 (kiełbasa kontrolna) (tab. 3).

Parametry barwy badanych wariantów kiełbas wykazały podobne tendencje zmian. Dodana skrobia nie miała więc istotnego wpływu na barwę gotowych wyrobów.

Wnioski

1. Dodatek skrobi modyfikowanej (skronet) w ilości 3% do drobno rozdrobnionych kiełbas parzonych wpływa na wzrost wydajności gotowych wyrobów.
2. Kiełbasy z dodatkiem skrobi modyfikowanej odznaczają się wyższą zawartością wody, co świadczy o dobrych właściwościach wiążących farszu. Podczas przechowywania obserwuje się spadek wiązania i utrzymywania wody wolnej, sugerujący retrogradację skrobi.
3. Dodatek skronetu w ilości 3% wpływa na zmniejszenie twardości, gumowatości i zuwalności gotowych wyrobów. W czasie przechowywania wartości tych parametrów zwiększały się, co może wiązać się ze zmniejszeniem sił wiążących wodę.
4. Dodatek preparatu skrobiowego nie wpływa na zmiany jasności L*, czerwoności a* i żółtości b* w czasie przechowywania, natomiast proces naświetlania powoduje zmniejszenie udziału barwy czerwonej i wzrost żółtości gotowych wyrobów.

Literatura

- [1] Adamczak L., Słowiński M., Plewnicka M.: Wpływ wybranych dodatków funkcjonalnych na jakość niskotłuszczowych kiełbas drobno rozdrobnionych. *Mięso i Wędliny*, 2001, **2**, 36 – 44.
- [2] Anonim.: Światowy dostawca skrobi obecnie z filia w Polsce. *Przem. Spoż.*, 1994, **10**, 339.
- [3] Claus J. R., Hunt M. C.: Low – fat, high added – water bologna formulated with texture – modifying ingredients. *J. Food Sci.*, 1991, **56** (3), 643 – 647, 652.
- [4] Dasiewicz K., Słowiński M., Wróbel R.: Wpływ wielkości dodatku skrobi ziemniaczanej i kukurydzianej na jakość drobiowych farszów i kiełbas drobno rozdrobnionych. *Mięso i Wędliny*, 2002, **6**, 44 – 47.
- [5] Dolata W.: Wpływ wybranych substancji dodatkowych na jakość przetworów mięsnych. *Pol. Zwierz. Gosp.*, 1995, **6**: 10 – 12.
- [6] Duda Z.: Zamienniki tłuszczu stosowane w przetwórstwie mięsa. *Gosp. Mięs.*, 1998, **2**, 22–26.

- [7] Fortuna T., Gibiński M., Pałasiński M.: Comparison of properties of amylophosphoric acid and di-starch phosphate salts. *Pol. J. Food Nutr. Sci.*, 1992, **1/42 (4)**, 115–120.
- [8] Hughes E., Cofrades S., Troy D.J.: Effects of fat level, oat fiber, and carrageenan on frankfurters formulated with 5, 12 and 30 % fat. *Meat Sci.*, 1997, **45 (3)**, 273–281.
- [9] Hughes E., Mullen A.M., Troy D.J.: Effects of fat level, tapioca starch, and whey protein on frankfurters formulated with 5 % and 12 % fat. *Meat Sci.*, 1998, **48 (1/2)**, 169–180.
- [10] Irie M., Jazumo A., Mohri S.: 1996. Rapid method for determining water – holding capacity in meat using Video image analysis and simple formulae. *Meat Sci.*, 1996, **42(1)**: 95.
- [11] Jarmoluk A., Pietrasik Z., Duda Z.: Wpływ stopnia uwodnienia farszu i wybranych dodatków skrobiowych na jakość parzonych kielbas drobno rozdrobnionych. *Mięso i Wędliny*, 2000, **3**, 30–34.
- [12] Kołczak T., Kupiec B., Palka K.: Wpływ preparatów skrobiowych na właściwości farszów mięsnych. *Zesz. Nauk. AR w Krakowie*, 1994, **290**, 155–165.
- [13] Maciołek H.: Efektywność stosowania hydrokoloidów w przemyśle mięsnym. *Przem. Spoż.*, 1996, **9**, 38–39.
- [14] Niederauer T.: Eigenschaften und Anwendungen von Hydrokolloiden. *Fleischwirt.*, 1998, **78 (5)**, 458–462.
- [15] Pietrasik Z.: Wpływ zróżnicowanego udziału białka, tłuszczu i hydrokoloidów na wybrane wyróżniki oceny sensorycznej i barwę kutrowanych kielbas parzonych. *Żywność. Technologia. Jakość*, 1998, **3 (16)**, 58–72.
- [16] Pietrasik Z.: Effect of content protein, fat, and modified starch on binding textural characteristics, and color of comminuted scalded sausages. *Meat Sci.*, 1999, **51 (1)**, 17–25.
- [17] Pikul J. 1993.: Ocena technologiczna surowców i produktów przemysłu drobiarskiego. *Wyd. AR. Poznań* 1993.
- [18] Shehata H.A.: Auswirkungen der Zerkleinerung und Zutaten auf die Qualität von preisgünstigen Brühwürsten und Füllungen in Konservendosen. *Fleischwirt.*, 1995, **75 (11)**: 1358–1362.
- [19] Słomińska L.: Enzymatyczne metody transformacji skrobi. *Przem. Spoż.*, 1995, **49 (12)**, 472–475, 480.
- [20] Walkowski A., Lewandowicz G.: Właściwości użytkowe krajowych spożywczych skrobi modyfikowanych. *Przem. Spoż.*, 1993, **47 (5)**, 127–129.


STORAGE STABILITY OF SCALDED SAUSAGES WITH DI-STARCH PHOSPHATE (SKRONET) ADDED

Summary

The objective of this study was to determine how a modified starch added to comminuted scalded sausages influences the water content percentage in the product, the water holding capacity, the texture, and the color of prepared products.

On the basis of the investigations performed, it is stated that the added modified starch significantly increases the water percentage in the prepared products; and this water increase results in the improved (higher) rate of production.

During the storage, it was stated that water binding ability decreased, and, thus, the water holding capacity decreased, either. In addition, it was found that the modified starch added affected the texture of ready-made products, and the products became less harder, more gummy and chewy. No effect of addition of modified starch on the color of products was stated.

Key words: modified starch, sausages, texture, color, and hydration properties. 

BARTOSZ SOŁOWIEJ, JACEK PIELECKI, DOMINIK SZWAJGIER

PREDYKCJA WYNIKÓW JEDNOCZESNEJ PRODUKCJI INULINAZY I INWERTAZY PRZEZ SZCZEPY *ASPERGILLUS NIGER* I *KLUYVEROMYCES MARXIANUS* PRZY ZASTOSOWANIU TECHNIKI SIECI NEURONOWYCH

Streszczenie

Celem pracy była próba zastosowania techniki sieci neuronowych o konstrukcji wielowarstwowej w predykcji wyników i optymalizacji warunków jednoczesnej produkcji inulinazy i inwertazy przez grzyb nitkowaty *Aspergillus niger* i drożdże *Kluyveromyces marxianus* w warunkach wglębnych hodowli wstrząsanych. Wejścia sieci reprezentowały ilości poszczególnych składników podłoża hodowlanego (NH_4NO_3 , $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$, KH_2PO_4 , $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, $\text{FeSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, ekstrakt drożdżowy, inulina), temperatura procesu biosyntezy enzymów, rodzaj mikroorganizmu i czas trwania hodowli, a wyjścia – aktywności inulinazy i inwertazy. Do oceny osiągalności zadawanych wartości wyjściowych zastosowano sieć odwróconą.

W doświadczeniach z użyciem szczepu *Aspergillus niger* i *Kluyveromyces marxianus* największy wpływ na końcowy efekt produkcji obydwu enzymów wywierała zawartość siarczanu magnezu obok źródła węgla. Kolejnym ważnym składnikiem podłoża był azotan amonu i fosforan dwuamonowy. Najmniej istotny wpływ na produkcję obydwu enzymów wywierała zawartość siarczanu żelaza i jednozasadowego fosforanu potasu.

Słowa kluczowe: sztuczne sieci neuronowe, predykcja, inulinaza, inwertaza, *Aspergillus niger*, *Kluyveromyces marxianus*.

Wprowadzenie

Wytwarzanie przez mikroorganizmy o znanych cechach genetycznych metabolitów z najwyższą wydajnością i powtarzalnością wymaga poznania i starannego doboru warunków procesu biotechnologicznego. Wysoki stopień złożoności każdego procesu biotechnologicznego sprawia, że do osiągnięcia założonego celu konieczne staje się poznanie czynników istotnie wpływających na biosyntezę pożądaných metabolitów.

Czynniki te można sklasyfikować jako fizyczne: temperatura biosyntezy, pH podłoża hodowlanego, szybkość mieszania, poziom natleniania itp. oraz chemiczne: ilościowy i jakościowy skład podłoża.

W celu ustalenia optymalnych warunków przebiegu procesu stosuje się poznane wcześniej statystyczne metody optymalizacji [4]. Polegają one na wykonaniu wielu doświadczeń jednostkowych obejmujących zmiany różnych parametrów procesu.

Jedną z nich jest metoda „pełnowymiarowa”, polegająca na zbadaniu wpływu różnych kombinacji czynników fizycznych i chemicznych na proces biotechnologiczny [7]. Przykładem może być optymalizacja składu podłoża hodowlanego. Jeżeli w podłożu hodowlanym znajduje się 6 składników, to musimy wykonać 2^6 (64) doświadczeń jednostkowych, a gdy liczba składników jest większa i wynosi np. 10 to ilość doświadczeń wzrasta do liczby 2^{10} (1024). Zważywszy, że czas doświadczenia wynosi od kilku do kilkunastu dób i każdy ze składników powinien być użyty na trzech poziomach stężenia (niski, średni i wysoki), to metody te są czasochłonne, wymagają dużego nakładu pracy i pochłaniają znaczne środki finansowe. Powiększanie skali lub zmiana warunków przebiegu procesu wymaga każdorazowo powtórzenia procedury opisaną powyżej.

Wykorzystywane od niedawna metody techniki sztucznych sieci neuronowych umożliwiają nie tylko optymalizację warunków przebiegu procesu biotechnologicznego z udziałem określonego mikroorganizmu, lecz również predykcję (przewidywanie) z wysokim prawdopodobieństwem efektów biosyntezy pożądanego metabolitu, bez konieczności powtórnego wykonywania dużej liczby doświadczeń jednostkowych [10, 5, 8].

Pierwowzorem wszelkich sieci neuronowych jest mózg ludzki. Sieć neuronowa jest bardzo uproszczonym modelem mózgu. Składa się ona z dużej liczby (od kilkuset do kilkudziesięciu tysięcy) elementów przetwarzających informacje. Elementy te nazywane są neuronami, chociaż w stosunku do rzeczywistych komórek nerwowych ich funkcje są bardzo uproszczone. Neurony są powiązane w sieć za pomocą połączeń o parametrach (tzw. wagach) modyfikowanych w trakcie tzw. procesu uczenia. Topologia połączeń oraz ich parametry stanowią program działania sieci, zaś sygnały pojawiające się na jej wyjściach w odpowiedzi na określone sygnały wejściowe są rozwiązaniami stawianych jej zadań.

Większość współcześnie projektowanych i wykorzystywanych sieci neuronowych ma budowę warstwową, przy czym uwzględniając dostępność w trakcie procesu uczenia wyróżnia się warstwy: wejściową, wyjściową oraz tzw. warstwy ukryte [1, 6]. Ze względu na wysoką złożoność procesów biotechnologicznych coraz częściej do ich analizy są używane techniki sztucznych sieci neuronowych.

Ważną zaletą sieci neuronowych, jako urządzeń prognozujących, jest fakt, że w wyniku procesu uczenia sieć może nabyć zdolności przewidywania wartości wyjściowych sygnałów wyłącznie na podstawie obserwacji tzw. ciągu uczącego, bez konieczności stawiania w sposób jasny hipotez o naturze związku pomiędzy wejściowymi danymi a przewidywanymi wartościami wyników. Innymi słowy sieć może nauczyć się prognozować sygnały wyjściowe także wtedy, gdy korzystający z niej badacz nie wie nic o naturze związków łączących przesłanki z wnioskami [2]. Realizacja takich założeń w biotechnologii może przyczynić się do znacznego obniżenia kosztów produkcji różnych metabolitów przy jednoczesnym zapewnieniu najwyższych, możliwych do osiągnięcia w danych warunkach wydajności procesu. Fakt ten nabiera istotnego znaczenia przy biosyntezie różnych metabolitów na skalę przemysłową, gdzie mamy do czynienia z powiększaniem skali procesu oraz gdy do ich produkcji są używane drogie komponenty podłoża hodowlanych.

Celem pracy była próba zastosowania techniki sieci neuronowych o konstrukcji wielowarstwowej w predykcji wyników i optymalizacji warunków jednoczesnej produkcji inuliny i inwertazy przez grzyb nitkowaty *Aspergillus niger* i drożdże *Kluyveromyces marxianus* w warunkach wglębnych hodowli wstrząsanych.

Material i metody badań

Drobnoustroje

W doświadczeniach użyto wyselekcjonowane wcześniej dwa szczepy pochodzące z kolekcji Katedry Technologii Przemysłu Rolno-Spożywczego i Przechowalnictwa Akademii Rolniczej w Lublinie: grzyb nitkowaty z gatunku *Aspergillus niger* i drożdże z gatunku *Kluyveromyces marxianus*.

*Wglębne hodowle wstrząsane szczepu *Aspergillus niger**

Wglębne hodowle wstrząsane prowadzono w kolbach Erlenmayera o poj. 500 ml, które wypełniono do objętości 100 ml płynnym podłożem o składzie: NH_4NO_3 – 0,23%, $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ – 0,37%, KH_2PO_4 – 0,1%, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ – 0,05%, ekstrakt drożdżowy – 0,15%, topinambur w ilości równoważnej 1% inuliny w podłożu. Początkowy odczyn podłoża regulowano roztworem kwasu fosforowego do wartości $\text{pH} = 5,0$. Następnie kolby sterylizowano w autoklawie w temp. 120°C przez 30 min. Po tym czasie kolby chłodzono i podłoża szczepiono 1 ml zawiesiny zawierającej zarodniki *Aspergillus niger* zmyte sterylnością ze skosów. Tak przygotowane kolby inkubowano we wstrząsarce orbitalnej przy 200 obr./min., w temp. 28°C przez 7 dób. Po tym czasie oddzielano płyn pochodzący od biomasy metodą sączenia przez sączek z tworzywa

sztucznego, a następnie w filtratach i ekstraktach oznaczano aktywności inulinazy i inwertazy zewnątrzkomórkowej i wewnątrzkomórkowej.

Aktywność inulinazy (inwertazy) zewnątrzkomórkowej i wewnątrzkomórkowej oznaczano w ten sposób, że do 0,9 ml 0,1 M buforu McIlvaine'a o pH = 5,0 (pH = 4,0), zawierającego 1% inuliny (0,1 M sacharozy) dodawano 0,1 ml odpowiednio rozcieńczonego filtratu. Tak przygotowaną mieszaninę reagującą inkubowano w termostacie o temp. 50°C (60°C) przez okres 30 min. Ilość cukrów redukujących uwolnionych w czasie reakcji oznaczano metodą Millera [3]. Za jednostkę aktywności enzymatycznej przyjęto taką ilość enzymu, która uwalniała z substratu 1 μ mol ekwiwalentu fruktozy (glukozy) w 1 ml mieszaniny reagującej w ciągu 1 min, w warunkach oznaczenia [9]. Aktywność enzymatyczną wyrażano w jednostkach aktywności (U/ml) filtratu pochodowlanego.

W innych doświadczeniach użyto podłoży hodowlanych o zmodyfikowanym składzie tak, że podłoże każdej następnej hodowli zawierało mniejszą lub większą o 50% ilość jednego tylko składnika w stosunku do hodowli kontrolnej, przy zachowaniu zawartości pozostałych składników.

*Wgłębne hodowle wstrząsane drożdży *Kluyveromyces marxianus**

Wgłębne hodowle wstrząsane prowadzono w kolbach Erlenmayera o poj. 500 ml, które wypełniono do objętości 100 ml płynnym podłożem o składzie: $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ – 1,0%, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ – 0,05%, $\text{FeSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ – 0,015%, ekstrakt drożdżowy – 0,3%, topinambur w ilości równoważnej 1% inuliny w podłożu. Początkowy odczyn podłoża regulowano do wartości pH = 5,0. Następnie kolby sterylizowano w autoklawie w temp. 120°C przez 30 min. Po tym czasie kolby chłodzono i podłoża szczepiono sterylnie 1 ml zawiesiny zawierającej komórki *Kluyveromyces marxianus* zmyte sterylnie ze skosów. Tak przygotowane kolby inkubowano we wstrząsarce orbitalnej przy 200 obr./min, w temp. 28°C przez 7 dób. Po tym czasie oddzielano płyn pochodowlany od biomasy komórek metodą wirowania przy 5000×g w temp. 4°C. W filtratach i ekstraktach oznaczano aktywność inulinazy i inwertazy zewnątrzkomórkowej i wewnątrzkomórkowej metodą opisaną wyżej.

Podobnie modyfikowano skład podłoża hodowlanego w innych doświadczeniach.

Konstrukcja sieci neuronowej

Zastosowano sieć o konstrukcji warstwowej. Wejścia sieci reprezentowały ilości poszczególnych składników podłoża hodowlanego (NH_4NO_3 , $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$, KH_2PO_4 , $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, $\text{FeSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, ekstrakt drożdżowy, inulina), temperatura procesu biosyntezy enzymów, rodzaj mikroorganizmu i czas trwania hodowli, a wyjścia – aktyw-

ności inuliny i inwertazy. Do oceny osiągalności zadawanych wartości wyjściowych zastosowano sieć odwróconą.

Metoda modelowania – sieci neuronowe

Zasada:

- 1) to, co wiemy stanowi wejście sieci,
- 2) to, o co pytamy stanowi wyjście sieci.

Zazwyczaj formułujemy pytania dotyczące:

- 1) związków przyczynowo-skutkowych w modelowym procesie,
- 2) czynników procesu zapewniających pożądane wartości na wyjściu (maksymalizujące jakość procesu).

Implementacja:

- 1) pytania o związki przyczynowo-skutkowe implementujemy w ten sposób, że zmienne reprezentujące przyczyny stanowią wejście sieci a skutki wyjście (sieć I – pierwotna),
- 2) pytania o parametry procesu dające wymagany efekt implementujemy tak, że to, co wiemy i czego wymagamy wprowadzamy na wejście sieci, a to, o co pytamy, na wyjście (sieć II – odwrócona).

Problem osiągalności:

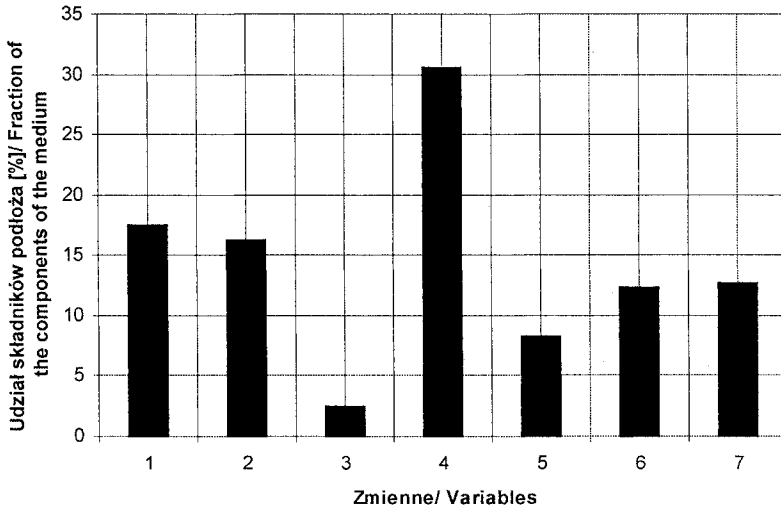
- 1) pytania kategorii 2 mają postać:
Jeżeli wiemy, że <.....> i żądamy, aby <.....> to musimy zrobić <.....>.
- 2) zmienne definiujące przestrzeń danych mają ograniczone zakresy, co oznacza, że to, czego żądamy może być nieosiągalne.

Sieć-II służy do określenia wartości parametrów procesu przy zadanych wymaganiach odnośnie jego wyjść, a sieć-I do sprawdzenia czy to, czego wymagamy jest osiągalne.

W obliczeniach wykorzystano program komputerowy Neuro Shell 2 ver.2 firmy Ward System Group Inc.

Wyniki i dyskusja

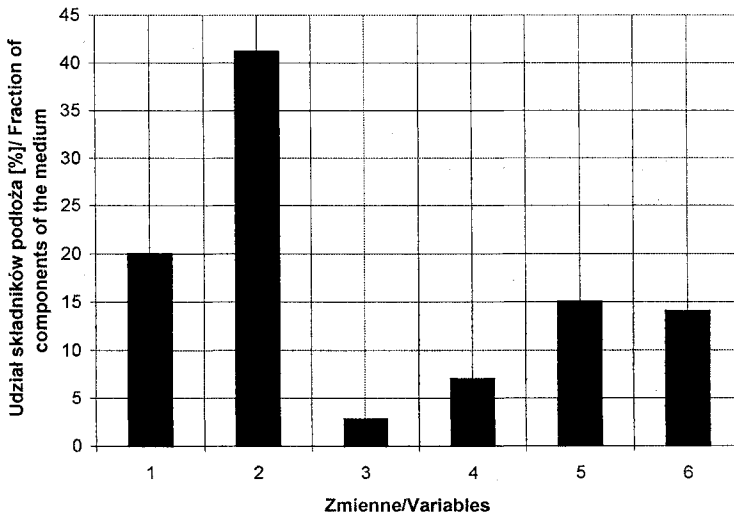
Wpływ poszczególnych składników podłoża hodowlanego na końcowy wynik doświadczenia jednoczesnej produkcji inuliny i inwertazy przez mikroorganizmy ilustrują wykresy (rys. 1, 2). W obydwu doświadczeniach, tj. z użyciem szczepu *Aspergillus niger* i *Kluyveromyces marxianus* największy wpływ na końcowy efekt produkcji obydwu enzymów wywierała zawartość siarczanu(VI) magnezu. Kolejnym ważnym składnikiem podłoża był azotan(V) amonu i wodorooortofosforan(V) amonu. Najmniej istotny wpływ na produkcję obydwu enzymów miała zawartość siarczanu(VI) żelaza(II) i dwuwodorooortofosforanu(V) potasu.



1. NH_4NO_3 ; 2. $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$; 3. KH_2PO_4 ; 4. $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$; 5. Ekstrakt drożdżowy / Yeast extract;
6. Inulina/ Inulin; 7. Temperatura/ Temperature.

Rys. 1. Względny udział wejść w formowaniu wartości wyjściowej sieci w produkcji inuliny i inwertazy przez *Aspergillus niger*.

Fig. 1. Relative effect of the input values on the output values obtained while producing the inulinase and invertase by *Aspergillus niger*.



1. $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$; 2. $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$; 3. $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$; 4. Ekstrakt drożdżowy/ Yeast extract;
5. Inulina/ Inulin; 6. Temperatura/ Temperature.

Rys. 2. Względny udział wejść w formowaniu wartości wyjściowej sieci w produkcji inuliny i inwertazy przez *Kluyveromyces marxianus*.

Fig. 2. Relative effect of the input values on the output values obtained while producing the inulinase and invertase by *Kluyveromyces marxianus*.

Tabela 1

Optymalny skład podłoża do jednoczesnej produkcji inulinyazy i inwertazy przez szczep *Aspergillus niger* w warunkach wgłębnej hodowli wstrząsanej, wyliczony przez wielowarstwową sieć neuronową.

The optimum composition of medium for the purpose of simultaneously producing the inulinase and invertase by *Aspergillus niger* in the batch shaken culture, as calculated by a many-layered neural network.

Składnik podłoża Component of the medium [g/l]	Standardowy skład podłoża Standard composition of the medium [g/l]	Optymalny skład podłoża obliczony przez sieć The optimum composition of the medium as calculated by the net- work [g/l]
NH ₄ NO ₃	2,3	3,18
(NH ₄)H ₂ PO ₄	3,7	1,15
KH ₂ PO ₄	1,0	0,50
MgSO ₄ ·7H ₂ O	0,5	1,10
Ekstrakt drożdżowy/ Yeast extract	1,5	1,25
Inulina/ Inulin	10	8,7
Temperatura/ Temperature [°C]	28	28

Tabela 2

Optymalny skład podłoża do jednoczesnej produkcji inulinyazy i inwertazy przez szczep *Kluyveromyces marxianus* w warunkach wgłębnej hodowli wstrząsanej, wyliczony przez wielowarstwową sieć neuronową.

The optimum composition of the medium for the purpose of simultaneously producing the inulinase and invertase by *Kluyveromyces marxianus* in the batch shaken culture, as calculated by a many-layered neural network.

Składnik podłoża Component of the medium [g/l]	Standardowy skład podłoża Standard composition of the medium [g/l]	Optymalny skład podłoża obliczony przez sieć The optimum composition of the medium as calculated by the network [g/l]
(NH ₄)H ₂ PO ₄	10,00	4,75
FeSO ₄ ·2H ₂ O	0,015	0,010
MgSO ₄ ·7H ₂ O	0,5	0,95
Ekstrakt drożdżowy Yeast extract	1,5	1,36
Inulina/ Inulin	10	9,1
Temperatura/ Temperature [°C]	28	30

Tabela 3

Zestawienie wyników doświadczalnych, predykcji sieci i współczynników korelacji w biosyntezie inulinazy i inwertazy przez *Aspergillus niger* i *Kluyveromyces marxianus*.

The experimental results obtained, the prediction as developed by a neural network, and the coefficients of correlation under a biosynthesis of the inulinase and invertase by *Aspergillus niger* and *Kluyveromyces marxianus*.

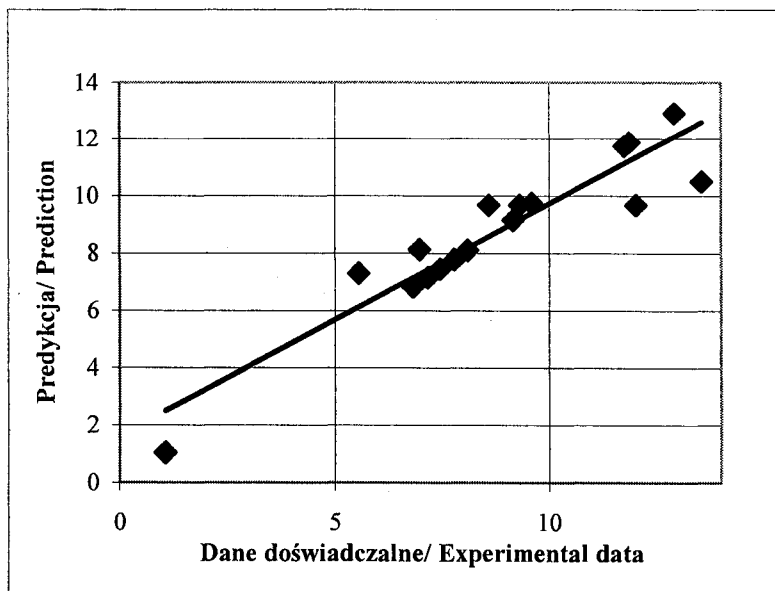
Mikroorganizm Microorganism	Enzym Enzyme	Wynik doświadczalny Experimental result [U/ml]	Predykcja wyniku Prediction of the result [U/ml]	Współczynnik korelacji Correlation coefficient
<i>Aspergillus niger</i>	inulinaza zewnątrzkomórkowa extracellular inulinase	13,56	11,00	0,8112
	inulinaza wewnątrzko- mórkowa intracellular inulinase	3,97	4,10	0,9282
	inwertaza zewnątrzko- mórkowa extracellular invertase	31,11	32,56	0,9554
	inwertaza wewnątrz- komórkowa intracellular invertase	7,04	8,15	0,8438
<i>Kluyveromyces marxianus</i>	inulinaza zewnątrzkomórkowa extracellular inulinase	11,16	12,38	0,9014
	inulinaza wewnątrzko- mórkowa intracellular inulinase	7,60	6,95	0,9144
	inwertaza zewnątrzko- mórkowa extracellular invertase	112,17	120,45	0,9312
	inwertaza wew- nątrzkomórkowa intracellular invertase	98,80	94,12	0,9425

Optimalny skład podłoży hodowlanych do jednoczesnej produkcji inuliny i inwertazy przez szczepy *Aspergillus niger* i *Kluyveromyces marxianus* został obliczony przez sieć odwróconą (sieć II). Wyniki obliczeń przedstawiono w tab. 1 i 2.

Optimalny skład podłoży hodowlanych obliczony przez wielowarstwową sieć neuronową weryfikowano doświadczalnie w warunkach wglębnych hodowli wstrząsanych szczepów *Aspergillus niger* i *Kluyveromyces marxianus*, porównując wartości predykcji tych wyników wyliczonych przez sieć z wynikami doświadczeń. Następnie obliczono współczynniki korelacji pomiędzy tymi danymi. Wyniki zestawiono w tab. 3.

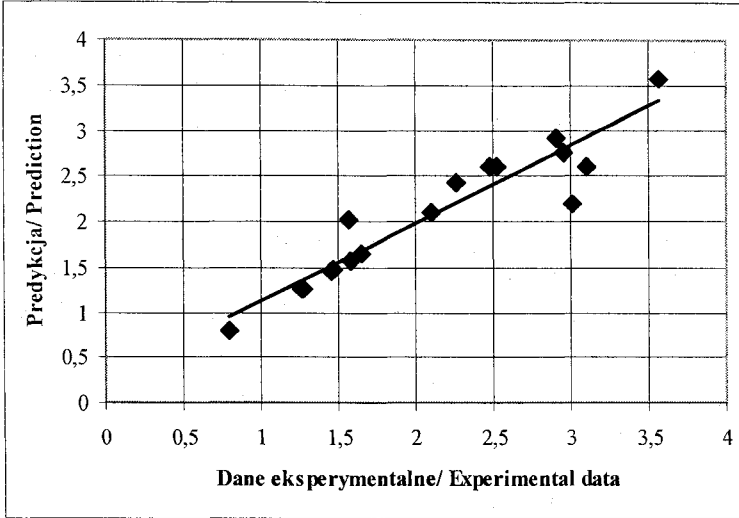
Na podstawie wartości współczynników korelacji należy stwierdzić, że otrzymano dobrą zgodność predykcji sieci z danymi doświadczalnymi, co może świadczyć o dobrym dopasowaniu modelu sieci do warunków doświadczenia. Wartości współczynników korelacji zawierały się w przedziale od 0,8112 do 0,9554.

Na podstawie rys. 3., 4., 5. i 6. należy stwierdzić, że jeżeli zbiór punktów wartości pomiarowych rozłożony jest równomiernie wokół krzywej trendu lub bezpośrednio na krzywej i krzywa przechodzi w okolicach początku wykresu, to sieć jest prawidłowo wytrenowana i dobrze dopasowana do analizowanego modelu doświadczenia.



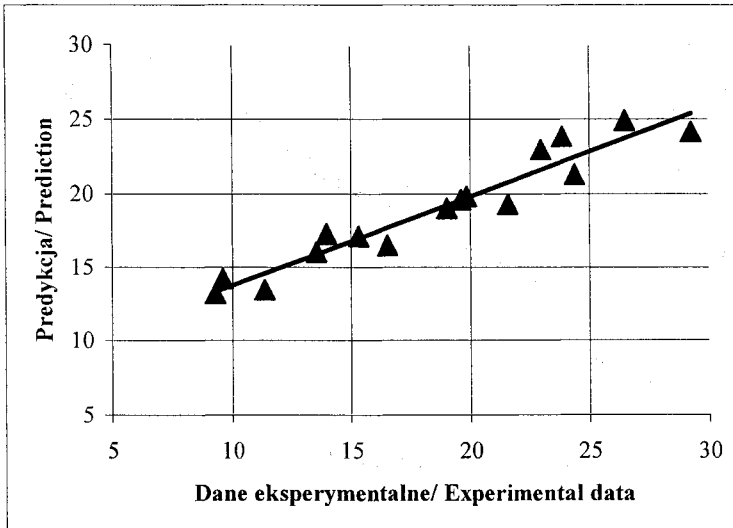
Rys. 3. Aktywność inuliny zewnątrzkomórkowej [U/ml] produkowanej przez *Aspergillus niger* i predykcja tych danych przez sieć neuronową. [U/ml] – jednostka/ml.

Fig. 3. Activity of the extracellular inulinase [U/ml] produced by *Aspergillus niger* and the prediction of these data developed by a neural network. [U/ml] – unit/ml.



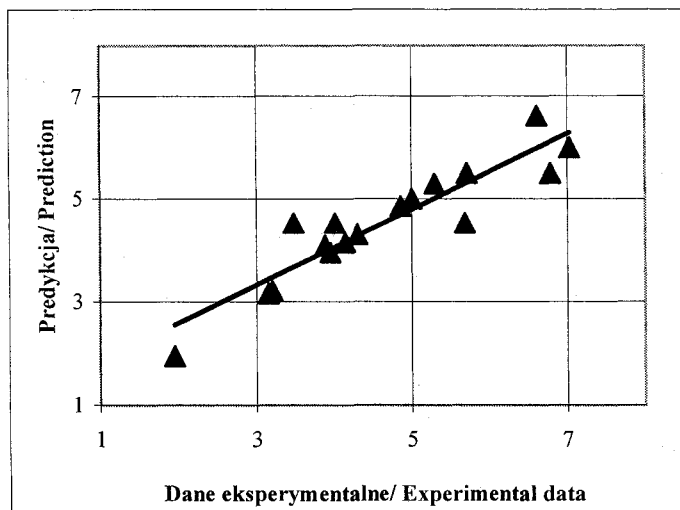
Rys. 4. Aktywność inulinyazy wewnątrzkomórkowej [U/ml] produkowanej przez *Aspergillus niger* i predykcja tych danych przez sieć neuronową. [U/ml] – jednostka/ml.

Fig. 4. Activity of the intracellular inulinase [U/ml] produced by *Aspergillus niger* and the prediction of these data as developed by a neural network. [U/ml] – unit/ml.



Rys. 5. Aktywności inwertazy zewnątrzkomórkowej [U/ml] produkowanej przez *Kluyveromyces marxianus* i predykcja tych danych przez sieć neuronową. [U/ml] – jednostka/ml.

Fig. 5. Activity of the extracellular invertase [U/ml] produced by *Kluyveromyces marxianus* and the prediction of these data as developed by neural network. [U/ml] – unit/ml.



Rys. 6. Aktywność inwertazy wewnątrzkomórkowej [U/ml] produkowanej przez *Kluyveromyces marxianus* i predykcja tych danych przez sieć neuronową. [U/ml] – jednostka/ml.

Fig. 6. Activity of the intracellular invertase [U/ml] produced by *Kluyveromyces marxianus* and the prediction of these data as developed by a neural network. [U/ml] – unit/ml.

Wnioski

1. Zastosowanie techniki sieci neuronowych o wielowarstwowej architekturze umożliwiło: predykcję wyników doświadczenia i określenie wpływu każdego ze składników podłoża hodowlanego na efekt końcowy produkcji inuliny i inwertazy przez *Aspergillus niger* i *Kluyveromyces marxianus*, w warunkach wglębnych hodowli wstrząsanych, w ustalonych wcześniej zakresach zmian wartości parametrów doświadczenia.
2. Na podstawie wyników doświadczeń jednostkowych istnieje możliwość optymalizowania warunków hodowli mikroorganizmów w zakresie maksymalizacji efektów końcowych doświadczenia.
3. Zastosowanie techniki sieci neuronowych może przyczynić się do znacznego obniżenia kosztów i czasochłonności analizy złożonych procesów biotechnologicznych.

Literatura

- [1] Fu L.: Neural networks in computer intelligence. McGraw-Hill, New York 1995.
- [2] Hudson P., Postma E.: Choosing and using a neural net. In: Braspennig, P.J. et al. (Eds.), Artificial Neural Networks, An Introduction to ANN Theory and Practice. Lecture Notes in Computer Science, Springer, NY 1995.

- [3] Miller G.L.: Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugars. *Anal. Chem.*, 1959, **31**, 426-428.
- [4] Nair S.R., Panda T.: Statistical optimization of medium components for improved synthesis of pectinase by *Aspergillus niger*. *Bioproc. Eng.*, 1997, **16**, 169-173.
- [5] Najjar Y., Basheer I., Hajmeer, M.: Computational neural networks for predictive microbiology. I. Methodology. *Int. J. Food Microbiol.*, 1997, **34**, 27-49.
- [6] Nguyen D., Widrow B.: Improving the learning speed of two-layer neural networks by choosing initial values of the adaptive weights. In: Proceedings of an IEEE International Joint Conference on Neural Networks, San Diego, CA, 1990.
- [7] Poorna V., Kulkarni P. R.: Full factorial design to study fermentative production of inulinase using inulin from Kuth (*Saussurea lappa*) root powder by *A. niger* van Teighem UV11 mutant. *Biore-source Technology*, 1995, **54**, 117-121.
- [8] Shene C., Andrews B., Asenjo J. A.: Optimization of *Bacillus subtilis* fed-batch fermentation for the maximization of the synthesis of a recombinant β -1,4-endoglucanase. *Computer Applications in Biotechnology*, 1998, **7**, 219-223.
- [9] Vandame E.J., Derycke D.G.: Microbial inulinases: fermentation process, properties and applications. *Adv. Appl. Microbiol.*, 1983, **29**, 139-176.
- [10] Yu-Dong Cai, Kuo-Chen Chou.: Using neural network for prediction of subcellular location of prokaryotic and eukaryotic proteins. *Molec. Cell Biol. Res. Communic.*, 2000, **4**, 172-173.

**THE PREDICTION OF RESULTS TO BE OBTAINED WHILE SIMULTANEOUSLY
PRODUCING THE INULINASE AND INVERTASE BY *ASPERGILLUS NIGER* AND
KLUYVEROMYCES MARXIANUS, WITH APPLICATION OF A NEURAL NETWORKS
TECHNIQUE**

S u m m a r y

The objective of this paper was to present how a neural networks technique could be applied to predict the outcomes of a simultaneous production of the inulinase and invertase by *Aspergillus niger* and *Kluyveromyces marxianus*, as well as to optimize the conditions of the said production using a batch shaken culture. The inputs of the network represented the quantities of individual components of the medium (NH_4NO_3 , $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$, KH_2PO_4 , $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, yeast extract, inulin), the type of a microorganism, and the cultivation time, the temperature of enzymes biosynthesis, whereas the outputs represented: the activity of inulinase and the invertase.

In experiments with *Aspergillus niger* and *Kluyveromyces marxianus*, the content of $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ and inulin showed the highest effect on the final production result of the two enzymes. The NH_4NO_3 and the $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ were the second important components of the medium. The content of $\text{FeSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ and KH_2PO_4 had the lowest significant effect on the production of inulinase and invertase.

Key words: artificial neural networks, prediction, inulinase, invertase, *Aspergillus niger*, *Kluyveromyces marxianus*. ☒

IWONA ŚCIBISZ, MARTA MITEK, JOANNA MALEWSKA

AKTYWNOŚĆ PRZECIWUTLENIAJĄCA OWOCÓW BORÓWKI WYSOKIEJ (*VACCINIUM CORYMBOSUM* L.)

Streszczenie

Celem pracy było określenie pojemności przeciwutleniającej oraz zawartości polifenoli, antocyjanów i kwasu askorbinowego w owocach czterech odmian borówki wysokiej (*Vaccinium corymbosum* L.) uprawianych w Polsce. Ponadto zbadano, jak zmienia się zawartość tych składników w owocach o różnej wielkości, tj. zebranych podczas różnych terminów zbioru.

Stwierdzono, że owoce borówki wysokiej odznaczają się wysoką aktywnością przeciwutleniającą, w zakresie od 17,6 (odmiana Lateblue) do 61,8 (odmiana Earlyblue) $\mu\text{mola Troloxu/g}$ owoców. Zaobserwowano, że owoce mniejsze zawierały więcej polifenoli oraz antocyjanów i jednocześnie odznaczały się wyższą aktywnością przeciwutleniającą. Kolejność zbioru znacznie wpływała na wielkość owoców. Borówki z danej rośliny w kolejnych zbiorach były coraz mniejsze. Jedynym wyjątkiem była odmiana Bluecrop, której owoce z trzeciego zbioru były większe od zebranych podczas pierwszego zbioru.

Słowa kluczowe: borówka wysoka, aktywność przeciwutleniająca, polifenole, antocyjany, kwas askorbinowy.

Wstęp

Rola wolnych rodników w procesach chorobowych i starzeniu się organizmu jest dobrze udokumentowana [11]. Naturalne mechanizmy obronne organizmu wspomagane są przez związki przeciwutleniające zawarte w żywności. Bogatym źródłem tych substancji są owoce, warzywa, herbaty, wina, przyprawy i rośliny lecznicze. Przeprowadzone w ostatnich latach badania pozwoliły na wstępne scharakteryzowanie surowców owocowych i warzywnych pod względem ich właściwości przeciwutleniających. Wśród przebadanych gatunków owoców i warzyw największą pojemnością przeciwutleniającą wyróżniały się owoce borówki czernicy [5].

Borówka wysoka (*Vaccinium corymbosum* L.) jest jedną z najmłodszych roślin sadowniczych w Polsce. Potocznie nazywana jest jagodą niebieską lub borówką amerykańską. Należy do rodziny wrzosowatych, podobnie jak najbardziej znana w Polsce borówka czernica. Jest ona rośliną uprawną, co umożliwia wyhodowanie lub zwiększenie produkcji odmian uprawianych, charakteryzujących się wysoką zawartością związków o charakterze prozdrowotnym.

Badania ostatnich lat przeprowadzone w Stanach Zjednoczonych, Kanadzie i Finlandii dowiodły, że odmiany borówki wysokiej różnią się między sobą pojemnością przeciwutleniającą, co wynika głównie z odmiennego składu ich frakcji antocyjanowej [8]. Wykazano również duży wpływ czynników środowiskowych i agrotechnicznych na poziom aktywności przeciwutleniającej owoców [1].

W Stanach Zjednoczonych, gdzie borówkę wysoką uprawia się na znacznie większą skalę, często pierwszy i drugi zbiór przeprowadza się ręcznie, a jagody sprzedaje się jako owoc świeży. Natomiast ostatni zbiór, gdy owoce są znacznie mniejsze i przez to mniej atrakcyjne dla konsumenta, wykonuje się mechanicznie i owoce przeznacza się do przetwórstwa [13].

W Polsce nie przeprowadzono, jak dotychczas, badań nad właściwościami przeciwutleniającymi uprawianych odmian borówki wysokiej. Nie zajmowano się również badaniem wpływu terminu zbioru, a tym samym średnicy owoców na aktywność przeciwutleniającą.

Celem pracy było określenie pojemności przeciwutleniającej owoców czterech odmian borówki wysokiej oraz wpływu wielkości jagód zbieranych w różnych terminach na tę aktywność.

Materiał i metody badań

Materiał badawczy stanowiły owoce czterech odmian borówki wysokiej pochodzące z pola doświadczalnego borówek uprawnych Katedry Sadownictwa i PPO SGGW w Błoniu k. Prażmowa. Badane odmiany to: Earlyblue (odmiana wczesna), Bluecrop, Jersey (odmiany o średniej porze dojrzewania) i Lateblue (odmiana późna). Z każdej odmiany pobierano owoce z dwóch zbiorów tj. z pierwszego i trzeciego.

Zbiorów dokonywano w terminach:

- Earlyblue – 14.07.2001 (zbiór I), 09.08.2001 (zbiór III),
- Bluecrop – 01.08.2001 (zbiór I), 27.08.2001 (zbiór III),
- Jersey – 16.08.2001 (zbiór I), 11.09.2001 (zbiór III),
- Lateblue – 16.09.2001 (zbiór I), 12.10.2001 (zbiór III).

Oznaczanie pojemności przeciwutleniającej prowadzono metodą Millera i Rice-Evans [9]. Metoda ta polega na porównaniu hamowania procesu utleniania methmioglobiny przez przeciwutleniacze znajdujące się w badanym materiale. Methmioglobina reagując z nadtlakiem wodoru tworzy ferryloxioglobinę, która następnie reaguje z

ABTS (2,2'-azynobis-3-ethylbenzotiazolino-6-sulfonianem, Sigma), tworząc relatywnie stabilny związek ABTS^{•+}, charakteryzujący się niebieskozieloną barwą. Do oznaczenia polifenoli ogółem zastosowano metodę z odczynnikiem Folin-Ciocalteu`a [12]. Czynnikiem ekstrahującym był 75% roztwór acetonu. Wyniki podano w przeliczeniu na kwas taninowy. Zawartość antocyjanów oznaczano metodą Fuleki i Francis [4], która polega na określeniu różnicy w absorbancji roztworów o pH 1,0 (forma oksoniowa) i pH 4,5 (forma pseudozasadowa) przy długości fali 520 nm. Zawartość kwasu askorbinowego określano metodą ksylenową [14].

Wyniki i dyskusja

Średnica owoców

Największe owoce miała odmiana Bluecrop. Średnia wielkość owoców tej odmiany z pierwszego zbioru wynosiła 18,4 mm, natomiast borówki ze zbioru trzeciego były nieco większe, ich średnica wynosiła 19,1 mm. Najmniejszą wielkością charakteryzowały się owoce wczesnej odmiany Earlyblue. Średnica owoców zbieranych podczas pierwszego zbioru wynosiła 16,6 mm, natomiast borówki zebrane podczas zbioru trzeciego były znacznie mniejsze, ich średnica wynosiła 14,0 mm (tab. 1).

Kolejność zbioru znacząco wpływała na wielkość owoców. Borówki w kolejnych zbiorach były coraz mniejsze. Jedynym wyjątkiem była odmiana Bluecrop, której owoce z trzeciego zbioru były większe od zebranych podczas pierwszego zbioru.

Pojemność przeciwutleniająca

Owoce borówki wysokiej charakteryzowały się wysoką pojemnością przeciwutleniającą zawierającą się w zakresie od 17,6 (odmiana Lateblue) do 61,8 $\mu\text{mola Troloxu/g}$ owoców (odmiana Earlyblue).

Aktywność przeciwutleniająca borówek odmiany Earlyblue pochodzących z pierwszego zbioru wynosiła 26,9 $\mu\text{mola Troloxu/g}$ owoców. Owoce pochodzące z trzeciego zbioru odznaczały się ponad dwukrotnie wyższą aktywnością przeciwutleniającą, wynoszącą 61,8 $\mu\text{mola Troloxu/g}$ (tab. 1). Są to znacznie wyższe wartości od uzyskanych przez Ehlenfeldta i Priora [3], którzy podają, że aktywność przeciwutleniająca borówki odmiany Earlyblue wynosi 19,7 $\mu\text{mola Troloxu/g}$ owoców.

Pojemność przeciwutleniająca owoców odmiany Bluecrop z pierwszego zbioru była dość wysoka i wynosiła 40,3 $\mu\text{mola Troloxu/g}$, w borówkach z trzeciego zbioru wartość ta była niższa i wynosiła 33,2 $\mu\text{mola Troloxu/g}$. Niższe wartości aktywności przeciwutleniającej owoców odmiany Bluecrop wynoszące od 10,4 do 17,0 $\mu\text{mola Troloxu/g}$ uzyskali Ehlenfeldt i Prior [3], Connor i wsp. [2] oraz Prior i wsp. [15]. Natomiast Connor i wsp. [1] w swojej pracy podają, że pojemność przeciwutleniająca

owoców borówki wysokiej odmiany Bluecrop w zależności od okresu wegetacji i miejsca uprawy kształtuje się w zakresie wartości od 13,6 do 35,3 $\mu\text{mola Troloxu/g}$ owoców. Wyjątkowo wysoką aktywność przeciwutleniającą borówek odmiany Bluecrop wynoszącą 50 $\mu\text{mola Troloxu/g}$ stwierdził Moyer i wsp. [10].

Tabela 1

Wybrane cechy fizykochemiczne owoców borówki wysokiej odmian: Earlyblue, Bluecrop, Jersey i Lateblue.

Selected physical and chemical characteristics of the blueberry fruit (Earlyblue, Bluecrop, Jersey, and Lateblue cultivars).

Odmiana borówki wysokiej Blueberry Cultivar		Średnica owoców Fruit size (diameter) [mm]	Aktywność przeciwutleniająca [$\mu\text{mol Troloxu/g}$] Antioxidant activity [$\mu\text{mol of Trolox eq/g}$]	Zawartość polifenoli ogółem Total content of polyphenols [mg%]	Zawartość antocyjanów ogółem Total content of anthocyanins [mg%]	Zawartość kwasu askorbinowego Ascorbic acid content [mg%]
		x \pm SD	x \pm SD	x \pm SD	x \pm SD	x \pm SD
Earlyblue	Zbiór I Crop I	16,6 \pm 1,4	26,9 \pm 6,0	457,6 \pm 13,0	132,0 \pm 16,4	1,4 \pm 0,1
	Zbiór III Crop III	12,1 \pm 2,6	61,8 \pm 4,0	497,4 \pm 2,0	227,2 \pm 2,6	2,2 \pm 0,1
Bluecrop	Zbiór I Crop I	18,4 \pm 1,3	40,3 \pm 3,6	341,1 \pm 24,3	79,4 \pm 10,4	1,4 \pm 0,1
	Zbiór III Crop III	19,1 \pm 1,6	33,2 \pm 4,6	227,7 \pm 8,7	64,1 \pm 16,8	1,6 \pm 0,1
Jersey	Zbiór I Crop I	15,0 \pm 1,0	26,3 \pm 0,4	369,2 \pm 3,2	171,4 \pm 3,4	2,0 \pm 0,1
	Zbiór III Crop III	13,7 \pm 1,5	33,8 \pm 1,1	390,2 \pm 2,0	227,0 \pm 4,8	3,2 \pm 0,3
Lateblue	Zbiór I Crop I	16,9 \pm 1,1	17,6 \pm 0,5	383,0 \pm 1,8	171,2 \pm 3,3	2,2 \pm 0,1
	Zbiór III Crop III	14,0 \pm 1,3	21,2 \pm 0,2	415,0 \pm 1,8	213,4 \pm 7,8	2,9 \pm 0,1

x – wartość średnia / mean value; SD – odchylenie standardowe / standard deviation

Pojemność przeciwutleniająca owoców odmiany Jersey z pierwszego zbioru wynosiła 26,3 $\mu\text{mola Troloxu/g}$, a w zbiorze trzecim wartość ta była większa i wynosiła 33,8 $\mu\text{mola Troloxu/g}$. Wartości te są wyższe od uzyskanych przez Connor i wsp. [2] (7,8 $\mu\text{mola Troloxu/g}$), Ehlenfeldta i Priora [3] (19,3 $\mu\text{mola Troloxu/g}$) oraz Priora i wsp. [15], którzy podają, że w zależności od miejsca uprawy aktywność przeciwutle-

nijająca owoców odmiany Jersey kształtuje się w zakresie od 18,1 do 21,4 $\mu\text{mola Troloxu/g}$ owoców. Również z badań Connor i wsp. [1] wynika, że w zależności od miejsca i roku zbiorów, owoce odmiany Jersey wykazują pojemność przeciwutleniającą na poziomie 16,7 do 29,3 $\mu\text{mola Troloxu/g}$ owoców.

Aktywność przeciwutleniająca owoców odmiany Lateblue z pierwszego zbioru wynosiła 17,6 $\mu\text{mola Troloxu/g}$ owoców, borówki ze zbioru trzeciego wykazywały wyższą aktywność antyoksydacyjną wynoszącą 21,2 $\mu\text{mola Troloxu/g}$. Ehlenfeldt i Prior [3] podają niższe wartości aktywności w przypadku odmiany Lateblue tj. 15,8 $\mu\text{mola Troloxu/g}$.

Zawartość polifenoli ogółem

Zawartość polifenoli ogółem w owocach odmiany Earlyblue z pierwszego zbioru wynosiła w przeliczeniu na kwas taninowy 457,6 mg%, a w owocach ze zbioru trzeciego 497,4 mg% (tab. 1).

Zawartość polifenoli w owocach odmiany Bluecrop z pierwszego zbioru wynosiła 341,1 mg%, natomiast owoce ze zbioru trzeciego zawierały mniej polifenoli ogółem, tj. 227,7 mg%. Moyer i wsp. [10] oznaczyli 304 mg% polifenoli w owocach odmiany Bluecrop, a Kalt i wsp. [7] podają poziom 386,2 mg kw. gallusowego/100 g. Z badań prowadzonych przez Connor i wsp. [1] wynika, że zawartość polifenoli ogółem w owocach odmiany Bluecrop waha się w granicach od 295 do 461 mg kw. gallusowego/100g w zależności od roku i miejsca uprawy.

Ogólna zawartość polifenoli, w przeliczeniu na kwas taninowy, w owocach odmiany Jersey z pierwszego zbioru wynosiła 369,2 mg%, a w owocach z trzeciego zbioru 390,2 mg%. Uzyskane wyniki są znacznie wyższe od podanych przez Priora i wsp. [15], tj. od 181,1 do 221,3 mg kw. gallusowego/100g, a zbliżone do wartości podanych przez Connor i wsp. [1], czyli od 350 do 516 mg kw. gallusowego/100g.

Zawartość polifenoli ogółem w owocach odmiany Lateblue z pierwszego zbioru wynosiła 383 mg%, a w owocach z trzeciego zbioru 414,9 mg%.

Zawartość antocyjanów ogółem

Zawartość antocyjanów w owocach odmiany Earlyblue z pierwszego zbioru wynosiła 132 mg%, w przeliczeniu na chlorek cyjanidyny, a ze zbioru trzeciego wartość ta była prawie dwukrotnie wyższa i wynosiła 227,2 mg% (tab. 1).

Zawartość antocyjanów w owocach odmiany Bluecrop ze zbioru pierwszego wynosiła 79,4 mg%, w trzecim zbiorze była nieco niższa tj. 64,0 mg%. Są to wyniki niższe od podanych przez Ehlenfeldta i Priora [3], którzy uzyskali 182 mg% antocyjanów w owocach. Zjawisko to można tłumaczyć odmiennymi warunkami pogodowymi, o czym piszą między innymi Kähkönen i wsp. [6]. Dowodzą oni, że niska temperatura

podczas dojrzewania owoców wpływa na wzrost zawartości antocyjanów, podobne działanie ma niski poziom nawożenia azotowego i fosforowego. Panująca w lipcu 2001 r. wysoka temperatura powietrza i intensywne nasłonecznienie nie sprzyjały syntezie antocyjanów i tym można tłumaczyć niższą od spodziewanej zawartość tych związków w owocach odmiany Bluecrop.

Owoce odmiany Jersey charakteryzowały się również wysoką zawartością antocyjanów wynoszącą odpowiednio w owocach z pierwszego i trzeciego zbioru 171,4 i 227,0 mg%. W badaniach prowadzonych przez Connor i wsp. [1] zawartość antocyjanów odmiany Jersey wahała się od 147 do 198 mg% w zależności od miejsca i roku uprawy. Niższe wartości tego parametru w borówkach odmiany Jersey, uprawianej w różnych rejonach Stanów Zjednoczonych, stwierdzili Prior i wsp. [15] – na poziomie 100,1 do 116,6 mg%.

Zawartość antocyjanów w owocach odmiany Lateblue z pierwszego zbioru wynosiła 171,2 mg% i była zbliżona do wyników otrzymanych przez Ehlenfeldta i Priora (176 mg%) [3]. W borówkach z trzeciego zbioru, w badaniach własnych, otrzymano nieznacznie więcej antocyjanów – 213,4 mg%.

Zawartość kwasu askorbinowego

Zawartość kwasu askorbinowego w owocach borówki wysokiej nie przekraczała 3,2 mg% (odmiana Jersey) (tab.1). Owoce borówki wysokiej nie są bogatym źródłem kwasu askorbinowego, dlatego można przypuszczać, że w niewielkim stopniu wpływa on na ich aktywność przeciwutleniającą. Podobnie uważają Kalt i wsp. [7], którzy podają, że kwas askorbinowy stanowi jedynie 0,4-9,4% aktywności przeciwutleniającej borówek.

Wnioski

1. Owoce czterech odmian borówki wysokiej uprawianych w Polsce charakteryzują się wysoką pojemnością przeciwutleniającą w zakresie od 17,6 (odmiana Lateblue) do 61,8 μmola Troloxu/g owoców (odmiana Earlyblue)
2. Owoce z kolejnych zbiorów są coraz mniejsze, osiągając w trzecim zbiorze tylko 70% swojej początkowej wielkości. Jedynym wyjątkiem była odmiana Bluecrop, której owoce z trzeciego zbioru były większe od zebranych podczas pierwszego zbioru.
3. Wraz ze zmniejszaniem się średnicy owoców wzrasta zawartość polifenoli, antocyjanów i jednocześnie zwiększa się pojemność przeciwutleniająca owoców w przeliczeniu na masę świeżej tkanki.
4. Wskazuje się na możliwość wykorzystania mniej atrakcyjnych (mniejszych) dla konsumenta i przy tym tańszych owoców do celów przetwórczych. Przetwory z

tych owoców będą odznaczały się wyższą aktywnością przeciwutleniającą, a tym samym będzie je można zaliczyć do produktów o wysokich wartościach prozdrowotnych.

Literatura

- [1] Connor A., Luby J.J., Tong C.B.: Genotypic and environmental variation in antioxidant activity, total phenolic content and anthocyanin content among blueberry cultivars. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.*, 2002, **127**, 89-97.
- [2] Connor A., Luby J.J., Hancock J.F., Berkheimer S., Hanson E.J.: Changes in fruit antioxidant among cultivars during cold-temperature storage. *J. Agric. Food Chem.*, 2002, **50**, 893-898
- [3] Ehlenfeldt M.K., Prior R.L.: Oxygen radical absorbance capacity (ORAC) and anthocyanins concentration in fruit and leaf tissues of highbush blueberry. *J. Agric. Food Chem.*, 2001, **49**, 2222-2227.
- [4] Fuleki T., Francis F.J.: Quantitative methods for anthocyanins. *J. Food Sci.*, 1968, **33**, 72.
- [5] Horubala A.: Pojemność przeciwutleniająca i jej zmiany w procesach przetwarzania owoców i warzyw. *Przem. Ferm. Owoc. Warz.*, 1999, **3**, 30-32.
- [6] Kähkönen M.P., Hopia A.I., Heinonen M.: Berry phenolics and their antioxidant activity. *J. Agric. Food Chem.*, 2001, **49**, 4076-4082.
- [7] Kalt W., Forney C.F., Martin A., Prior R.L.: Antioxidant capacity, vitamin C, phenolics and anthocyanins after fresh storage of small fruits. *J. Agric. Food Chem.*, 1999, **47**, 4638-4644.
- [8] Kalt W.: Interspecific variation in anthocyanins, phenolics and antioxidant capacity among genotypes of highbush and lowbush blueberries. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.*, 2001, **127**, 89-97.
- [9] Miller N.J., Rice-Evans C.: Spectrophotometric determination of antioxidant activity, *Redox Report.*, 1996, **2** (3), 161-171.
- [10] Moyer R.A., Hummer K.E., Finn C.E., Frei B., Wrolstand R.E.: Anthocyanins, phenolics, and antioxidant capacity in diverse small fruits: *Vaccinium, Rubus and Ribes*. *J. Agric. Food Chem.*, 2002, **50**, 519-525.
- [11] Panczenko-Kresowska B.: Wolne rodniki a żywienie. *Wiadomości Zielarskie*, 1997, **10** (39), 17-18.
- [12] Peri C., Pompei G.: An assay of different phenolic fraction in wines. *Am. J. Enol. Vitic.*, 1971, **22**, 2, 55.
- [13] Pliszka K. (red.): *Borówka wysoka*. PWRiL. Warszawa 2002.
- [14] PN-90/A-75101/11. Oznaczenie zawartości kwasu askorbinowego.
- [15] Prior R.L., Cao G., Martin A., Sofic E., McEwen J., O'Brien C., Lischner N., Ehlenfeld M., Kalt W., Krewer G., Mainland C. M.: Antioxidant capacity as influenced by total phenolic and anthocyanin content, maturity and variety of *vaccinium* species, *J. Agric. Food Chem.*, 1998, **46**, 2686-2693.
- [16] Sapers G.M., Burgher M., Philips J.G., Jones S.B.: Color and composition of highbush blueberry cultivars. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.*, 1984, **109**, 1, 105-111.

ANTIOXIDANT ACTIVITY OF Highbush BLUEBERRY (*VACCINIUM CORYMBOSUM L.*)

Summary

Different cultivars of *vaccinium corymbosum* were analyzed with regard to their total content of polyphenolics, total content of anthocyanins, ascorbic acid content, and antioxidant capacity. Cultivars of blueberry were harvested twice, the second harvest took place 26 days after the first one.

A total antioxidant capacity of the studied berries ranged from a low 17.6 (Lateblue) to 61.8 (Earlyblue) μmol Trolox equivalents/g of the fresh berry. Generally, the fruits harvested earlier were larger except for the Bluecrop cultivar. The smaller fruits showed the highest contents of anthocyanins and polyphenols. The data obtained confirm indicate that blueberries are a rich source of antioxidants.

Key words: highbush blueberry, antioxidant activity, anthocyanins, polyphenols, ascorbic acid. ☒

ANNA TARCZYŃSKA, STEFAN ZIAJKA, JAROSŁAW KOWALIK

METODY STATYSTYCZNE W SYSTEMIE HACCP W PRZEMYSŁE MLECZARSKIM

Streszczenie

Wdrażanie systemów zapewniania jakości i bezpieczeństwa żywności wymaga monitorowania wielu parametrów produkcyjnych w celu zagwarantowania bezpieczeństwa wytwarzanego wyrobu. Celem badań było przedstawienie możliwości praktycznego zastosowania metod statystycznych w systemie HACCP. Żaden proces produkcyjny nie zapewnia wykonania wszystkich elementów z pełną dokładnością, co jest powodem występowania zmienności, której przyczyny tkwią zarówno w procesie, jak i w otoczeniu. Metody statystycznego sterowania polegają na stałej obserwacji procesów i wychwytywaniu wszystkich nieprawidłowości w jego przebiegu. Istotą stosowania tych metod jest doprowadzenie do stanu ustabilizowania procesów technologicznych, a następnie osiągnięcie wymaganej zdolności.

Słowa kluczowe: SPC, HACCP, metody statystyczne.

Wprowadzenie

Pozycja przedsiębiorstwa zależy od sposobu jego funkcjonowania, a w szczególności od jakości oferowanych produktów. Poziom jakości produktów i obsługi nabywców determinuje pozycję rynkową i sukces każdego wytwórcy. Dostosowanie polskiego przemysłu spożywczego do gospodarki rynkowej i wymagań Unii Europejskiej oraz Światowej Organizacji Handlu wymaga działań, spośród których do najistotniejszych należą zapewnienie bezpieczeństwa, wymagań higienicznych oraz spełnienie standardów jakościowych. Dyrektywa 93/43/EEC z dnia 14 czerwca 1993 roku w sprawie higieny środków spożywczych nakłada obowiązek stosowania systemu HACCP na wszystkich działających w łańcuchu żywnościowym, w tym na przetwórców żywności. Perspektywa pełnej integracji z Unią Europejską była jednym z czynników, które spowodowały zainteresowanie się polskich przedsiębiorstw systemami zapewniania bezpieczeństwa żywności HACCP oraz systemami zarządzania jakością

zgodnymi z normami ISO serii 9000. Sytuacja ta ma odzwierciedlenie w przepisach krajowych. W ustawie z dnia 11 maja 2001 r. *o warunkach zdrowotnych żywności i żywienia* (Dz. U. Nr 63, poz.634), w nowelizacji tej ustawy z dnia 24 lipca 2002 r. (Dz. U. Nr 135, poz. 1145), jak również w ustawie z dnia 30 października 2003 r. *o zmianie ustawy o warunkach zdrowotnych żywności i żywienia oraz niektórych innych ustaw* (Dz. U. Nr 208, poz. 2020) znajduje się zapis o obowiązku wdrożenia systemu HACCP w przedsiębiorstwach branży spożywczej.

Do niedawna działania służb kontroli jakości polegały na wyrwykowym pobieraniu prób z partii wyrobów gotowych. Taki sposób badania nie gwarantuje ani bezpieczeństwa, ani jakości produktów, ponieważ prawdopodobieństwo wykrycia wyrobów niespełniających wymagań, mogących stanowić zagrożenie dla zdrowia konsumenta, wynosi zaledwie kilka procent. Mała skuteczność tradycyjnej kontroli jakości produktu gotowego wynika m.in. z niedoskonałości testów do wykrywania zagrożeń (ograniczona czułość, powtarzalność) oraz niemożliwości ustalenia ich rozmieszczenia w masie wyrobu oraz przypadkowego pojawiania się zagrożeń w partii wyrobu. Ocena poziomu jakości całej partii na podstawie zbadanej próbki, przy ustalonym poziomie ryzyka, jest pomocna w określeniu jakości partii wchodzących i wychodzących z procesu. Jest to jednak kontrola bierna, która zakłada określoną wadliwość produkcji. Ten sposób kontroli dotyczy zdarzeń historycznych, nie daje informacji o przyczynach produkcji braków [1, 5].

W systemach zapewniania bezpieczeństwa żywności takie podejście jest niewystarczające. W systemach tych dużą wagę przypisuje się zapobieganiu powstawania wyrobów niezgodnych z wymaganiami, zastępując dotychczasową strategię wykrywania prewencją. Oznacza to konieczność podjęcia działań związanych z usprawnianiem każdej fazy procesu. Systemowe podejście do zapewniania bezpieczeństwa żywności w swym założeniu zawiera elementy statystycznego sterowania, polegające na stałej (tam, gdzie jest to uzasadnione) obserwacji przebiegu procesu, w celu jak najszybszego wykrycia nieprawidłowości w jego przebiegu, zapobiegając tym samym wyprodukowaniu wyrobu wadliwego.

Stosowanie metod statystycznych nie ogranicza się tylko do kontroli jakości gotowego wyrobu, ale jest ważnym elementem wszystkich etapów pętli jakości: od rozpoznania potrzeb, poprzez przebieg procesu produkcyjnego, po ocenę stopnia ich zaspokojenia. Metody statystyczne służą przede wszystkim potwierdzeniu, że użyte przez zakład środki zapewniają bezpieczeństwo klienta. Umożliwiają monitorowanie, diagnozowanie procesu, ocenę stabilności, a przede wszystkim pozwalają na aktywne sterowanie nim.

Metody statystyczne przedstawiane są zwykle jako zbiór klasycznych procedur statystycznych związanych z testowaniem hipotez, poziomami ufności, lub rozkładami prawdopodobieństwa, co powoduje brak akceptacji ich stosowania wśród pracowni-

ków nadzorujących procesy technologiczne. Tymczasem metody szczególnie przydatne w zapewnianiu bezpieczeństwa i jakości zostały znacznie uproszczone z myślą o poszerzeniu kręgu użytkowników. Zmienność stosowanego surowca i różnorodność produkowanego asortymentu w przemyśle mleczarskim powinna sprzyjać stosowaniu tych metod.

Celem niniejszej pracy było przedstawienie możliwości praktycznego wykorzystania metod statystycznego sterowania procesem technologicznym w przemyśle mleczarskim oraz określenie wpływu statystycznej analizy procesów na możliwość doskonalenia systemu zapewniania bezpieczeństwa żywności.

Przedmiot i organizacja badań

Przedmiotem badań były procesy wytwórcze wybranych produktów trzech spółdzielni mleczarskich (A, B, C) o różnym poziomie rozwoju systemów zapewniania jakości oraz jednej spółdzielni (D) nieposiadającej żadnego systemu zapewniania jakości (tab. 1).

Tabela 1

Rozwój systemów zapewniania jakości w badanych spółdzielniach mleczarskich.

Progressing with the implementation of Quality Assurance Systems Progress in dairy plants investigated.

Spółdzielnia mleczarska Diary Plant	PN-ISO 9001		PN-ISO 9002		HACCP	
	wdrożony implemented	utrzymany maintained	wdrożony implemented	utrzymany maintained	wdrożony implemented	wdrożony maintained
A	✓	✓			✓	✓
B			✓	✓	✓	
C			✓	✓	✓	✓
D	-	-	-	-	-	-

Badaniami objęto 11 procesów technologicznych w różnych zakładach. Każdy proces badano w minimum pięciu powtórzeniach. Badane procesy wytwarzania obejmowały produkcję wyrobów mleczarskich przedstawionych w tab. 2.

Badania realizowano w 4 głównych etapach (rys. 1):

ETAP 1 – przeanalizowanie systemu HACCP, wdrożonego w danym zakładzie. Obejmowało ono zapoznanie się z treścią Księgi HACCP, procedur systemowych, procedur i instrukcji roboczych, (jeśli takie istniały) oraz innych zapisów.

ETAP 2 – identyfikacja potrzeb stosowania metod statystycznych w badanym zakładzie oraz przygotowanie procedur opisujących sposób zbierania danych i ich analizy. Podczas identyfikacji potrzeb stosowania metod statystycznych brano pod uwagę tylko

te parametry, które są badane w zakładach. Nie ingerowano w częstotliwość i zasadność prowadzonych pomiarów.

ETAP 3 – uczestnictwo w wybranych procesach, dokonywanie pomiarów na poszczególnych etapach procesu produkcyjnego, zgodnie z wcześniej przygotowanymi procedurami i instrukcjami oraz zgodnie z zasadami prowadzenia badań statystycznych.

ETAP 4 – ocena badanych procesów na podstawie sporządzonych wykresów, kart kontrolnych, histogramów, obliczonych wskaźników wydolności jakościowej.

Karty kontrolne, histogramy, analizy zdolności procesów oraz analizy Pareto zostały wykonane w pakiecie STATISTICA 5.5 przy wykorzystaniu modułów Sterowanie jakością – karty kontrolne oraz Analiza procesu.

Tabela 2

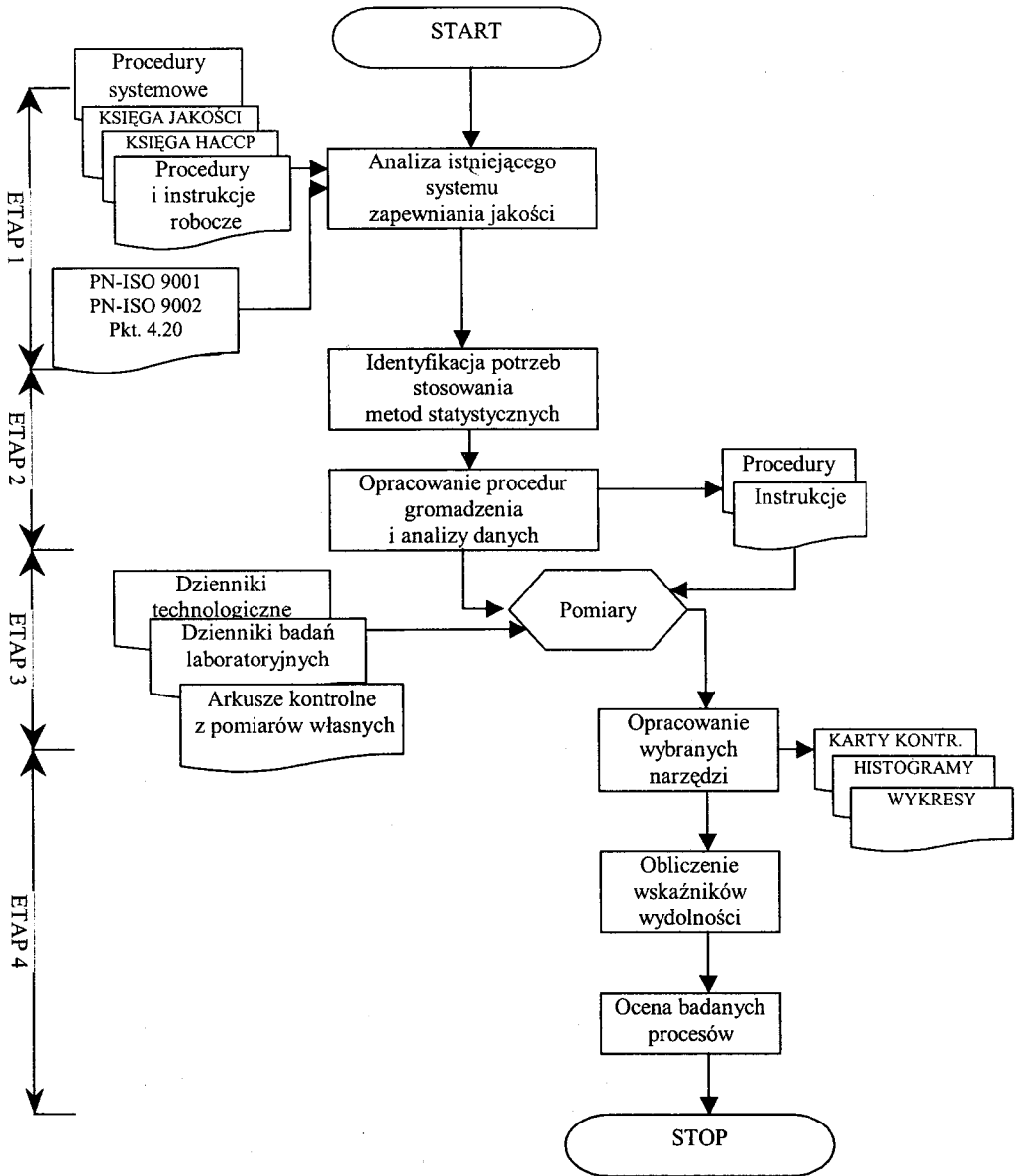
Procesy produkcyjne wybranych wyrobów w poszczególnych spółdzielniach mleczarskich.
Technological processes of manufacturing selected products by individual dairy plants.

Spółdzielnia mleczarska Dairy Plant	Wyrób/Product						
	Masło Butter	Mleko zagęszczone niesłodzone Condensed, non-sweetened milk	Mleko UHT UHT Milk	Mleko w proszku odłuszczone granulowane Dry granular skim milk	Śmietanka UHT UHT cream	Twaróg Tvorog	Sery topione Melted cheese types
A	✓	✓	✓	✓			
B	✓		✓		✓	✓	
C							✓
D	✓					✓	

Wyniki i dyskusja

Odpowiedni dobór surowców i prawidłowy przebieg procesu produkcyjnego to główne etapy kształtowania jakości gotowego wyrobu. W czasie wytwarzania żywności z surowców dobrej jakości zmiany zależą od charakteru procesu przetwarzania i utrwalania związanego z działaniem czynników głównie fizycznych – np. temperatura, chemicznych – np. pozostałości środków myjących i biologicznych – procesy fermentacyjne. Ważne jest by mieć środki umożliwiające kontrolę i sterowanie tymi czynnikami [3, 4]. Metodami pomocnymi w produkcji żywności gwarantowanej jakości jest stosowanie zasad GMP/GHP oraz systemu HACCP. Wdrożenie systemu HACCP obli- guje też do stosowania różnorodnych metod obserwacji, dostarczających wiarygodnych informacji na temat procesu technologicznego; są one niezbędne do prowadzenia działań korygujących oraz weryfikacji samego systemu. Metody te powinny być szyb-

kie, tanie i rzetelne, co stanowi warunek ich wykorzystania do bieżącego sterowania produkcją.



Rys. 1. Schemat postępowania przy prowadzeniu badań.

Fig. 1. The Investigation Procedure Pattern.

Żaden proces produkcyjny nie zapewnia wykonania wszystkich elementów z pełną dokładnością, co jest powodem występowania zmienności. Przyczyny zmienności tkwią zarówno w procesie, jak i w jego otoczeniu. Techniki statystyczne mają na celu pomoc przy pomiarach, opisywaniu, analizie i interpretowaniu oraz identyfikowaniu zmienności. Metody statystycznego sterowania procesami polegają na stałej obserwacji procesu produkcyjnego i wychwytywaniu wszystkich nieprawidłowości w jego przebiegu. Stale powiększające się bazy danych dotyczące parametrów procesów pozwalają coraz dokładniej nimi sterować. Pozwalają one także na wykrycie z wyprzedzeniem, np. na zasadzie analizy trendów, możliwości pojawienia się niezgodności w procesie i podjęcie działań korygujących, a przez to zapobiegających powstaniu niezgodności.

Stosowanie metod statystycznej kontroli odbiorczej w ocenie dostaw, jak i wyrobów gotowych jest jak najbardziej uzasadnione i służy weryfikacji skuteczności zastosowanych działań zapobiegawczych wobec zagrożeń wprowadzanych do procesu na etapie odbioru surowców. Jednak zastosowanie tego podejścia w trakcie procesu produkcyjnego nie jest już w stanie zapewnić uzyskania produktu bezpiecznego dla zdrowia konsumenta [2]. Tych wad nie posiadają metody statystyczne opracowane specjalnie do sterowania procesami. Kontrola typu SPC jest ukierunkowana na proces i ma charakter kontroli czynnej. Jej wyniki nie służą do oceny wyrobów w kategoriach zgodności z wymaganiami, lecz do rozpoznania czy na proces działają czynniki zakłócające jego przebieg. SPC pozwala podjąć działania korygujące proces, zapobiegając powstaniu niezgodności.

Kartami kontrolnymi analizowanymi w niniejszej pracy były karty do oceny właściwości liczbowych [6, 7]. Na zaproponowanych kartach kontrolnych do oceny liczbowej występują dwa wykresy liniowe: wykres wartości średniej i wykres rozstępu. Aby w pełni zaprezentować badane procesy do każdej karty kontrolnej dołączono histogramy wartości średnich i rozstępu oraz histogram podsumowujący proces. Przykładową kartę kontrolną wraz z histogramem i obliczonymi wskaźnikami zdolności procesu przedstawiono na rys. 2.

Interpretacja karty kontrolnej

Na karcie tej obserwuje się nadmierny rozstęp pomiędzy kolejnymi pomiarami. Na wykresie średniej dwa pomiary przekraczają UCL, co stanowi 1,66% ogółu próbek. Powodem przekroczenia UCL jest zbyt wysoka temperatura topienia (99°C), spowodowana dużym dopływem pary regulowanym przez osobę obsługującą proces. Duży rozstęp świadczy o niewłaściwym sposobie przeprowadzania regulacji, o występowaniu czynników wyznaczalnych w procesie, które go destabilizują. Średnia temperatura topienia sera topionego edamskiego wynosiła $93,6^{\circ}\text{C}$, a odchylenie standardowe 1,07. Wskaźnik C_p wynosi 1,552, $C_{pk} = 1,133$. Wartość wskaźnika C_p wskazuje na to, że proces jest wydolny jakościowo, tzn. zawiera się w granicach specyfikacji z bezpiecz-

nym marginesem na wystąpienie przyczyn losowych. Jednak proces ten jest przesunięty w stronę dolnej granicy specyfikacji ($C_{pk} < C_p$), co wskazuje na obniżenie temperatury topienia w stosunku do wartości nominalnej. Sytuacja taka może spowodować, że pomimo zadowalającej wydolności jakościowej procesu może nastąpić przekroczenie minimalnej dopuszczanej specyfikacją temperatury topienia, co z kolei będzie stanowiło istotne zagrożenie bezpieczeństwa zdrowotnego wyrobu.

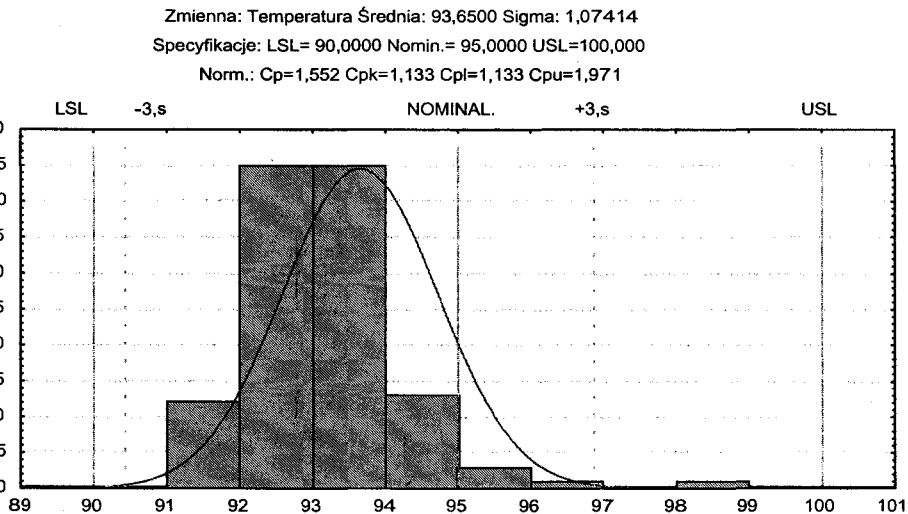
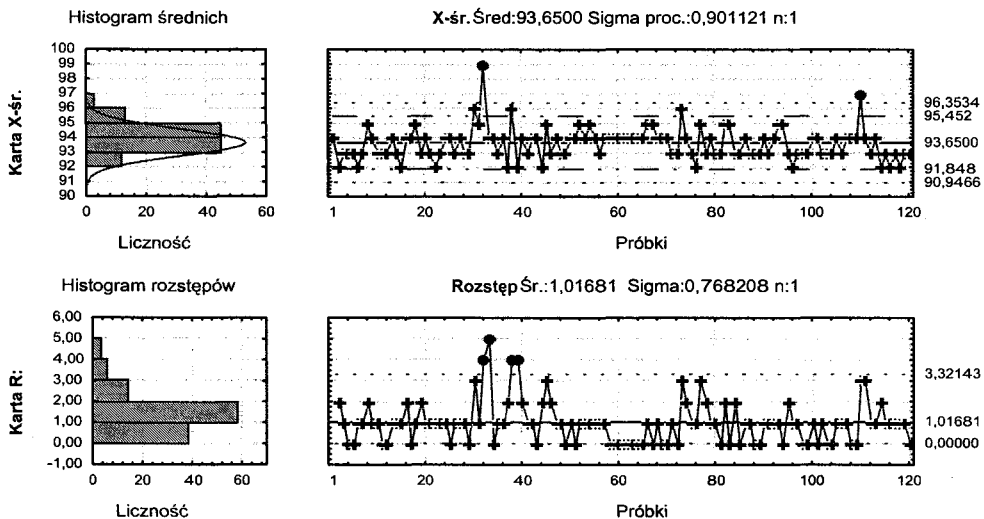
Etapy procesów technologicznych, w których uzasadnione jest stosowanie kart kontrolnych

Surowce i substancje dodatkowe wprowadzane do procesu produkcyjnego mogą stanowić zagrożenie zdrowotne dla konsumenta, dlatego bardzo ważna jest ich ocena. Etap doboru i selekcji surowca stanowi zwykle krytyczny punkt kontrolny. Zastosowanie kart kontrolnych do oznaczania zawartości poszczególnych składników w surowcach i wyrobach gotowych pozwoliło na uzyskanie informacji nie tylko o zmianach między poszczególnymi partiami, ale również o pracy osób wykonujących poszczególne analizy. Czynnikiem będącym przyczyną zaobserwowanej zmienności był nie tylko badany materiał, ale także miejsce i warunki przechowywania surowców i materiałów pomocniczych, sposób prowadzenia procesu produkcyjnego, włączając w to metodykę przeprowadzanych oznaczeń.

Karty kontrolne do monitorowania temperatury pasteryzacji i sterylizacji mleka oraz śmietanki charakteryzują się bardzo wąskimi granicami kontrolnymi. Parametry te zostały poddane kontroli statystycznej, gdyż są one krytycznymi punktami kontrolnymi w badanych procesach. Małe wartości rozstępu między kolejnymi pomiarami powodują znaczne zawężenie granic kontrolnych w porównaniu z wartościami wynikającymi ze specyfikacji. W przypadku automatycznej kontroli i rejestracji danych celowym byłoby zastosowanie kart kontrolnych do nadzoru nad wyposażeniem do kontroli, pomiarów i badań. W sytuacji, gdy granice tolerancji są wąskie należy polegać na wskazaniach przyrządów kontrolno-pomiarowych. Przestrzeganie terminów kalibracji i wzorcowania to jednak nie wszystko. Zastosowanie kart kontrolnych do nadzorowania przyrządów kontrolno-pomiarowych jest walidacją skuteczności prowadzonych działań. Od prawidłowości ich funkcjonowania zależy przebieg procesu, a ewentualne działanie zaworu zwrotnego od wskazań przyrządów pomiarowych.

Monitorowanie kwasowości mleka oraz jego przemian w procesie produkcji twarogów pozwala na rzeczywistą ocenę całego procesu, a przez to pozwoli operatorowi na szybkie działanie w celu korekcji procesu. Zmienne wartości cechy wynikające z przebiegu procesu technologicznego utrudniają stosowanie kart kontrolnych w branży mleczarskiej. Przykładem jest zmienna wartość pH podczas inkubacji mleka w procesie produkcji twarogu. W tym przypadku karty kontrolne Shewharta sygnalizowałyby występowanie trendu.

Operacja: Temperatura topienia Operation: Melting temperature	Częstotliwość pomiaru Frequency of taking measurements	Wydział: Division:	Nr karty Card No.
	1 pomiar / war 1 measurement / value	Topialnia: Melting Plant:	<i>C-1ep1</i>



Rys. 2. Przykład karty kontrolnej typu $X_{\bar{r}}$ -R.

Fig. 2. Example of a Control Card type X_{av} -R.

Konieczność prowadzenia procesu inkubacji w warunkach nadzorowanych związana jest z wyróżnikami jakościowymi gotowego wyrobu. Aby uzyskać informacje o poprawności oczekiwanych zmian kwasowości w czasie inkubacji, cały proces podzielono na kilka etapów, w których mierzono pH. Zaproponowany sposób monitorowania procesu inkubacji za pomocą kart kontrolnych pozwala na zgromadzenie informacji dotyczących przebiegu i warunków badanego procesu oraz zapobieganie wadom twarogów powstałym na tym etapie.

Zastosowanie kart kontrolnych do oceny wyrobów gotowych stanowi walidację przeprowadzonego procesu produkcyjnego i jest jednocześnie potwierdzeniem skuteczności działania systemu HACCP. Wyniki pomiarów z prowadzonego procesu gromadzone na karcie kontrolnej są podstawą do sterowania procesem. Podsumowaniem karty kontrolnej jest histogram przedstawiający wyniki pomiarów w określonych klasach. Połączenie analizy kart kontrolnych wraz z histogramami daje pełny obraz zachowania się procesu. Posługiwanie się wskaźnikami zdolności jakościowej procesu jest pożądane w relacjach z klientami. Wartości wskaźników zdolności jakościowej C_p i C_{pk} bezpośrednio wskazują na możliwości spełnienia wymagań jakościowych postawionych procesowi [4, 7]. Jeśli okaże się, że w badanym procesie wystąpiły niezgodności wówczas do ich analizy należy wykorzystać analizę Pareto – Lorenza w celu wskazania słabych miejsc w procesie. Diagram Ishikawy może posłużyć do wyznaczenia i analizy przyczyn zaistniałych niezgodności, a wykresy rozrzutu mogą pomóc w znalezieniu zależności pomiędzy określonymi parametrami. W przypadku występowania reklamacji do ich analizy powinna zostać wykorzystana analiza Pareto – Lorenza, FMEA, a w projektowaniu lub doskonaleniu wyrobu analiza QFD (ang. Quality Function Deployment), uwzględniająca głos klienta.

Na podstawie przeprowadzonych badań stwierdzono, że metody statystyczne mogą być stosowane w następujących sytuacjach:

- 1) **analiza zmienności cech produktu** – zastosowanie znajdują karty kontrolne do oceny liczbowej, za pomocą których monitorowane są poszczególne właściwości wyrobu w trakcie trwania procesu produkcyjnego. Dodatkowe przeprowadzenie analizy wariancji wskazuje na istotność zróżnicowania badanych cech i ewentualną konieczność przeprowadzenia stratyfikacji (rozwarstwienia) danych, np. w zależności od urządzenia, dostawców surowców lub materiałów pomocniczych. Wykresy i histogramy pozwalają na czytelną, graficzną wizualizację zmian poszczególnych cech produktu. Diagramy rozrzutu i analiza regresji przedstawiają zależności, jeśli takie występują, pomiędzy analizowanymi czynnikami. Na właściwe określenie cech produktu ma również wpływ rzetelność metod stosowanych do wykonywania poszczególnych oznaczeń. Mogą być ze sobą porównywane tylko te wyniki badań, które prowadzone były w warunkach powtarzalności i odtwarzalności. Metoda Pareto – Lorenza jest narzędziem, które umożliwia określenie kierun-

ków działań, jakie należy podjąć, by poprawić poziom jakości procesów, jest systematycznym i strukturalnym podejściem do rozróżnienia pomiędzy ważnym, ale nielicznym a mało ważnym, ale licznym. Analiza Pareto – Lorenza, stosowana do określenia przyczyn generujących największą zmienność, powinna doprowadzić do opracowania diagramu Ishikawy w celu określenia przyczyn jej powstawania. Wykres Ishikawy używany jest do graficznego przedstawienia powiązania między czynnikami działającymi na proces a skutkami, które one powodują. Pomaga on oddzielić przyczyny od skutków danej sytuacji, odkrywa nieujawnione do tej pory związki pomiędzy poszczególnymi przyczynami, co pomaga zidentyfikować źródło problemu;

- 2) **analiza skuteczności przeprowadzanych działań korygujących** – dobrymi narzędziami do przeprowadzenia analizy działań korygujących są karty kontrolne do oceny liczbowej, jak i alternatywnej. Jeśli zbierane dane nie są bezpośrednio nanoszone na karty kontrolne należy wykorzystać przygotowane do tego celu arkusze kontrolne. Przedstawienie zebranych danych w postaci histogramu obrazuje proces po zastosowaniu określonych działań korygujących. Porównanie histogramów z okresu przed zastosowaniem działań korygujących i po ich wprowadzeniu informuje o zmianach jakie zaszły w procesie. Na etapie decydowania jakie działania korygujące należy podjąć, przydatna jest macierzowa analiza danych, analiza Pareto – Lorenza, a także metoda FMEA (ang. Failure Mode and Effect Analysis) – Metoda Analizy Przyczyn i Skutków Wad. FMEA stosuje się w celu eliminacji wad wyrobu lub procesu poprzez rozpoznanie przyczyn ich powstawania i zastosowanie skutecznych środków zapobiegawczych oraz uniknięcia wystąpienia wad w nowych wyrobach i procesach przy wykorzystaniu wiedzy i doświadczeń z przeprowadzanych wcześniej analiz. W razie nieskuteczności zastosowanych działań korygujących należy sporządzić diagram Ishikawy;
- 3) **projektowanie i doskonalenie procesu** – zastosowanie znajduje tu analiza FMEA procesu, który ma być poddany doskonaleniu, jak i FMEA projektu, według którego ma być przeprowadzone doskonalenie. Karty kontrolne i wskaźniki wydolności jakościowej dają wytyczne co do kierunku, w jakim powinny zmierzać działania doskonalące proces. Analiza Pareto i diagram Ishikawy służą w tym przypadku do określenia i identyfikacji przyczyn generujących niepożądaną zmienność, które wpływają na proces obecnie, a mogą również wystąpić po modernizacji. Nowe narzędzia doskonalenia jakości (diagram pokrewieństwa, diagram relacji, diagram systematyki, diagram macierzowy, macierzowa analiza danych, diagram strzałkowy, PDPC – wykres programowania procesu decyzji) mogą być wykorzystane w celu określenia powiązań i zależności pomiędzy poszczególnymi charakterystykami opisowymi;

- 4) **projektowanie i doskonalenie wyrobu** należy poprzedzić analizą, której celem jest ustalenie, czy potrzeby i oczekiwania klientów są jednoznacznie rozumiane. Ważne jest przeprowadzenie analizy porównawczej, tzw. benchmarking, która prowadzi do rozpoznania wśród konkurencji. Do projektowania nowego wyrobu lub w celu doskonalenia obecnego znajduje zastosowanie metoda QFD – metoda rozwinięcia funkcji jakości. Metoda ta uwzględnia we wszystkich etapach projektowania maksymalną ilość czynników mogących wpłynąć na jakość przyszłego wyrobu, która umożliwi przełożenie wymagań klienta na język inżynierów. Analiza Pareto wskazuje cechy najbardziej pożądane w wyrobie, ukierunkowując w ten sposób analizę FMEA. W kontroli dostaw najlepszymi wskaźnikami są wskaźniki wydolności jakościowej procesu (C_p i C_{pk}). Karty kontrolne do oceny alternatywnej znajdują zastosowanie w analizie reklamacji. Ich konsekwencją powinno być sporządzenie histogramu lub analizy Pareto - Lorenza w celu określenia najczęstszych powodów reklamacji, a następnie przeanalizowanie ich przyczyn przy wykorzystaniu diagramu Ishikawy. Informacje pochodzące z przeprowadzonych analiz są podstawą do utworzenia listy charakterystyk jakościowych, które powinny być nadzorowane w procesie produkcyjnym.

Wnioski

1. W przemyśle mleczarskim istnieje konieczność monitorowania wielu procesów. Podstawowym błędem popełnianym przy monitorowaniu poszczególnych parametrów procesów produkcyjnych jest to, że dane są wyłącznie zbierane i nie wykorzystywane w dalszych analizach i procesach decyzyjnych, nie dając rzetelnych informacji o stanie prowadzonego procesu.
2. Aby dane z monitorowania procesów były wykorzystane w racjonalny sposób należy poddać je analizie statystycznej i na tej podstawie wnioskować o zmianach procesu. W celu uzyskania pełnego obrazu analizowanego procesu nie można ograniczać się do stosowania tylko jednego z narzędzi, np. kart kontrolnych. Narzędzia statystyczne wzajemnie się uzupełniają.
3. Oceny efektywności sterowania jakością dokonuje się poprzez analizę dokumentacji. Dokumentacja jest podstawą do nadzorowania oraz podejmowania działań zapobiegawczych i korygujących. Metody statystyczne można i należy tak dobrać i wdrożyć, by nie były traktowane przez pracowników jako dodatkowe obowiązki, a dawały wiele cennych informacji o procesie, np. o jego stabilności, głównych przyczynach niezgodności, skuteczności podjętych działań korygujących czy zadowoleniu klientów.

Literatura

- [1] Hubbard M.R.: *Statistical Quality Control for the Food Industry*. Ed. Chapman, Hall, New York 1996.
- [2] Hubbard M.R.: *Choosing a quality control system*. Technomic Publishing Company, Lancaster 1999.
- [3] Krodkiewicz – Skoczylas E. (pod red.): *Metody i narzędzia doskonalenia jakości*. Polskie Forum ISO 9000, Warszawa 2000.
- [4] Pyzdek T.: *Pyzdek's Guide to SPC. VoL. II. Applications and Special Topics*. QA Publishing, LLC, Tucson, Arizona 1992.
- [5] Dyrektywa 89/397/EEC z dnia 14 czerwca 1989 r. w sprawie urzędowej kontroli środków spożywczych.
- [6] PN-ISO 3534-2:1994. *Statystyka. Statystyczne sterowanie jakością. Terminologia i symbole*.
- [7] PN-ISO 8258 + AC1:1996. *Karty kontrolne Shewharta*.

STATISTICAL PROCESS CONTROL IN THE HACCP SYSTEM FOR THE DAIRY INDUSTRY

S u m m a r y

While implementing systems dealing with food quality and safety assurance, it is necessary to monitor many production parameters in order to guarantee the safety of final products. The aim of the investigations performed was to present some practical possibilities of how to apply statistical methods in the HACCP system. As for any production process, it is impossible to guarantee complete manufacturing accuracy of all elements. Thus, at any stage of the production, variations appear, and they are caused both by the manufacturing process itself and by the environment. The methods of statistical control over the manufacturing involve two basic routines: the production processes are permanently watched and any discrepancies during the production progress are identified. The most essential task of applying such methods is to stabilize the technological processes, and, next, to reach the required production capacity.

Key words: SPC, HACCP, statistical methods. ☒

INGRID WACHOWICZ, DANUTA KOŁOŻYŃ-KRAJEWSKA

WPLYW SOLENIA I SOLANKOWANIA NA JAKOŚĆ MIKROBIOLOGICZNĄ MIĘSA KURCZĄT

Streszczenie

Celem pracy było zbadanie jakości mikrobiologicznej mięsa tuszek kurcząt po zastosowaniu wybranych zabiegów technologicznych, tj. solenia tradycyjnego i solankowania.

Oznaczono ogólną liczbę drobnoustrojów (OLD) i liczbę psychrotrofów klasycznymi metodami płytkowymi w mięsie niesolonym, solonym tradycyjnie i solankowanym w dniu wytworzenia oraz w 2., 4., 6. dniu przechowywania w temp. 4°C.

Na podstawie uzyskanych wyników można stwierdzić, że solenie tradycyjne i przechowywanie w czasie do 4 dni jest metodą prowadzącą do zahamowania rozwoju OLD w tuszach kurcząt. Solankowanie tusz kurcząt nie wpływa w istotny sposób na ich trwałość w stosunku do prób niesolonych. Tusze solone tradycyjnie charakteryzowały się również istotnie niższą liczbą psychrotrofów w stosunku do prób niesolonych i solankowanych w 4. dniu przechowywania.

Stwierdzono, że solenie tradycyjne istotnie hamuje rozwój drobnoustrojów w tuszach drobiowych przechowywanych przez 4 dni, w temp. 4°C, w porównaniu z próbami niesolonymi i solankowanymi w badanych wariantach. Nie wykazano istotnego wpływu solankowania na jakość mikrobiologiczną tusz kurcząt w stosunku do prób niesolonych.

Słowa kluczowe: mięso kurcząt, solankowanie, jakość mikrobiologiczna.

Wstęp

Mięso drobiowe cenione jest głównie jako źródło białka pochodzenia zwierzęcego, o dużej wartości odżywczej, ze względu na optymalny skład aminokwasowy. Oprócz białka mięso dostarcza lipidów, związków mineralnych, w tym pierwiastków śladowych oraz witamin. Wartość odżywcza mięsa drobiowego jest nieco wyższa niż dużych zwierząt rzeźnych, gdyż zawiera ono więcej białka, a więc i więcej poszczególnych aminokwasów. Mięso to jest lekkostrawne i dietetyczne, stąd też jest zalecane

jako źródło białka dla niemowląt i dzieci, dla rekonwalescentów, osób starszych i prowadzących mało ruchliwy tryb życia [2].

Istotnym problemem jest jakość mikrobiologiczna mięsa drobiowego, gdyż może być ono dobrym środowiskiem rozwoju drobnoustrojów, szczególnie bakterii, ze względu na dużą zawartość białka, prawie obojętny odczyn środowiska ($\text{pH} = 6$) oraz obecność związków chemicznych w łatwo przyswajalnej formie [3].

Liczba mikroorganizmów, ich rozwój i wpływ na jakość mięsa zależy między innymi od sposobu uboju zwierząt, sposobu postępowania z surowcem po uboju oraz w trakcie dojrzewania i przechowywania mięsa.

Drobnoustroje, spotykane w surowcach mięsnych, pochodzą najczęściej z przewodu pokarmowego zwierząt, ich skóry, a także z otoczenia w jakim jest składowane mięso, z narzędzi i ludzi, którzy mieli z nim kontakt. Często bardzo poważnym źródłem zanieczyszczenia mięsa bywa woda używana do przetwórstwa [5].

Stopień namnożenia drobnoustrojów w mięsie zależy od początkowego zakażenia surowca, jego temperatury, odczynu, zawartości wody i w konsekwencji wpływa na trwałość mięsa. Mniejsza początkowa liczba mikroorganizmów skutkuje dłuższą przydatnością surowca do spożycia [3].

Drobnoustroje spotykane w tuszach zwierzęcych należą do różnych grup systematycznych i są niemal identyczne z tymi, które występują na powierzchni skóry zwierząt, w przewodzie pokarmowym, w otoczeniu, w którym znajdował się surowiec. Bakterie te należą najczęściej do rodzajów: *Pseudomonas*, *Alcaligenes*, *Escherichia*, *Micrococcus*, *Proteus*, *Bacillus*, *Clostridium*. Można także wyizolować bakterie patogene, takie jak *Salmonella sp.* czy *Yersinia enterocolitica*. Liczba tych bakterii jest zwykle mała, ale mogą się namnażać przy przechowywaniu w chłodniach. Zanieczyszczenie mięsa laseczkami jadu kiełbasianego *Clostridium botulinum* typu A i B jest stosunkowo rzadkie i nie stanowi większego problemu mikrobiologicznego [5].

Celem pracy była ocena jakości mikrobiologicznej i trwałości mięsa tuszek kurcząt poddanych soleniu tradycyjnemu lub solankowaniu, a następnie przechowywanych. Praca stanowi kontynuację badań wcześniejszych, w których określono optymalne warunki technologiczne procesów solenia i solankowania [9].

Materiał i metody badań

Materiał do badań stanowiły świeże tusze kurcząt zakupione w handlu detalicznym. Tusze były solone przez nacieranie solą lub solankowane w następujący sposób (stężenie solanki/czas): 6%/2 h, 7%/1 h, 8%/0,5 h, 9%/0,5 h, 10%/0,5 h, które zostały uznane, we wcześniejszych badaniach [9], za korzystne ze względu na właściwe nasolenie tuszy. Następnie tusze były przechowywane przez 6 dni w temp. 4°C.

Analizy mikrobiologiczne wykonano w mięsie (mięśniach, po usunięciu kości, razem ze skórą) niesolonym i solonym, tuż po nasoleniu oraz w 2., 4., 6. dniu prze-

chowywania tusz. Próby przechowywane były w jałowych woreczkach w temp. 4°C. Oznaczano ogólną liczbę drobnoustrojów (OLD) w jtk/g na agarze odżywcym (Noack Polen), według PN [6]. Posiewy wykonano metodą wgłębną; temp. inkubacji 37°C, czas inkubacji 48 godz. Oznaczano liczbę psychrotrofów w jtk/g na agarze odżywcym (Noack Polen). Posiewy wykonano metodą wgłębną według PN [7], temp. inkubacji 7°C, czas inkubacji 10 dni. Przed posiewem próby były rozdrabniane w wysterylizowanym wilku laboratoryjnym. Z rozdrobnionego produktu pobierano jałowo 5 g próby i przenoszono do jałowego woreczka do stomachera (Seward), a następnie dodawano 45 ml wody peptonowej. Przeprowadzano homogenizację w aparacie STOMACHER typu 80 przez 60 s, ze standardową prędkością. Otrzymywano pierwsze rozcieńczenie 10^{-1} , z którego przygotowywano kolejne dziesiętne rozcieńczenia, przenosząc jałowo 1 ml zawiesiny bakteryjnej z poprzedniego rozcieńczenia do probówki z 9 ml jałowej wody peptonowej. Za każdym razem zawartość probówki dokładnie mieszano przy użyciu mieszadła mikrobiologicznego (Heidolph). Na płytki Petriego wylewano po 1 ml zawiesiny bakteryjnej, z trzech kolejnych rozcieńczeń (w zależności od oczekiwanego poziomu skażenia produktu) w dwóch powtórzeniach. Zalewano płytki upłynnionym, ostudzonym agarem odżywcym, mieszano i pozostawiano do inkubacji. Do liczenia wybierano płytki zawierające od 15 do 300 kolonii [6]. W przypadku każdej próby wykonywano po 4 powtórzenia.

Przy statystycznym opracowywaniu wyników obliczano równania regresji prostoliniowej z wykorzystaniem programu Statgraphics Plus 4.0. Przy interpretacji wyników zastosowano model wzrostu, przeżywalności i inaktywacji drobnoustrojów Conlina, opisany przez Einarssona [1]. Krzywa regresji opisana jest funkcją $y = a_n + b_n x$, gdzie, można przyjąć, że $y = \log \text{ jtk/g}$; a_n - odpowiada w przybliżeniu początkowej liczbie drobnoustrojów, b_n - nachylenie krzywej wzrostu (współczynnik szybkości wzrostu - k). Obliczono również istotność różnic pomiędzy próbami stosując test U_R [10].

Wyniki i dyskusja

Zmiany ogólnej liczby drobnoustrojów w tuszach kurcząt w czasie przechowywania

Wyniki uzyskane w doświadczeniu mikrobiologicznym, dotyczącym tusz kurcząt solonych tradycyjnie i solankowanych, przechowywanych w temp. 4°C przedstawiono w tab. 1. Posłużyły one do obliczenia wartości a_n i b_n równań regresji prostoliniowej i wykreślenia krzywej wzrostu ogólnej liczby drobnoustrojów (OLD).

Równania krzywych wzrostu (modeli) OLD przedstawiają się następująco:

- tuszki kurcząt świeże niesolone: $\log N = 5,29 + 0,39\lambda \quad R^2 = 0,75;$
- tuszki kurcząt solone tradycyjnie: $\log N = 4,37 + 0,4\lambda \quad R^2 = 0,73;$

- tuszki kurcząt solankowane w solance 6%/2h: $\log N = 6,01 + 0,26\lambda$ $R^2 = 0,54$;
- tuszki kurcząt solankowane w solance 7%/1h: $\log N = 6,11 + 0,3\lambda$ $R^2 = 0,43$;
- tuszki kurcząt solankowane w solance 8%/0,5h: $\log N = 4,5 + 0,54\lambda$ $R^2 = 0,77$;
- tuszki kurcząt solankowane w solance 9%/0,5h: $\log N = 5,39 + 0,37\lambda$ $R^2 = 0,64$;
- tuszki kurcząt solankowane w solance 10%/0,5h: $\log N = 5,68 + 0,29\lambda$ $R^2 = 0,40$.

Tabela 1

Ogólna liczba drobnoustrojów (\log jtk/g) w tuszach kurcząt przechowywanych w temp. 4°C.
Total plate count (\log cfu/g) in chicken carcasses during their storage at 4°C.

Tusze kurcząt Chicken carcasses	Czas przechowywania [dni] / Storage duration [days]							
	0		2		4		6	
	x_{sr}	S.	x_{sr}	S.	x_{sr}	S.	x_{sr}	S.
Niesolone / Non-salted	5,25	±0,38	6,06	±0,81	6,95	±0,41	7,52	±0,56
Solone tradycyjnie Traditionally salted	4,64 ^{a*}	±0,11	4,91 ^{a****}	±0,21	5,65 ^{a**}	±0,74	7,08	±0,72
Solankowane Brine cured								
6%/2h	6,13 ^{b*}	±1,01	6,34 ^{b**}	±0,38	7,49 ^{b****}	±0,45	7,48	±0,24
7%/1h	6,59 ^{b**}	±1,01	5,84 ^{b**}	±0,49	7,58 ^{b****}	±0,52	8,02	±0,49
8%/0,5h	4,051	±0,23	5,42	±0,43	7,00	±0,98	7,61	±0,96
9%/0,5h	5,68 ^{b*}	±0,88	5,54 ^{b**}	±0,14	7,23 ^{b****}	±0,39	7,61	±0,6
10%/0,5h	5,44	±0,87	5,85	±0,85	6,9 ^{b*}	±0,53	7,57	±0,73

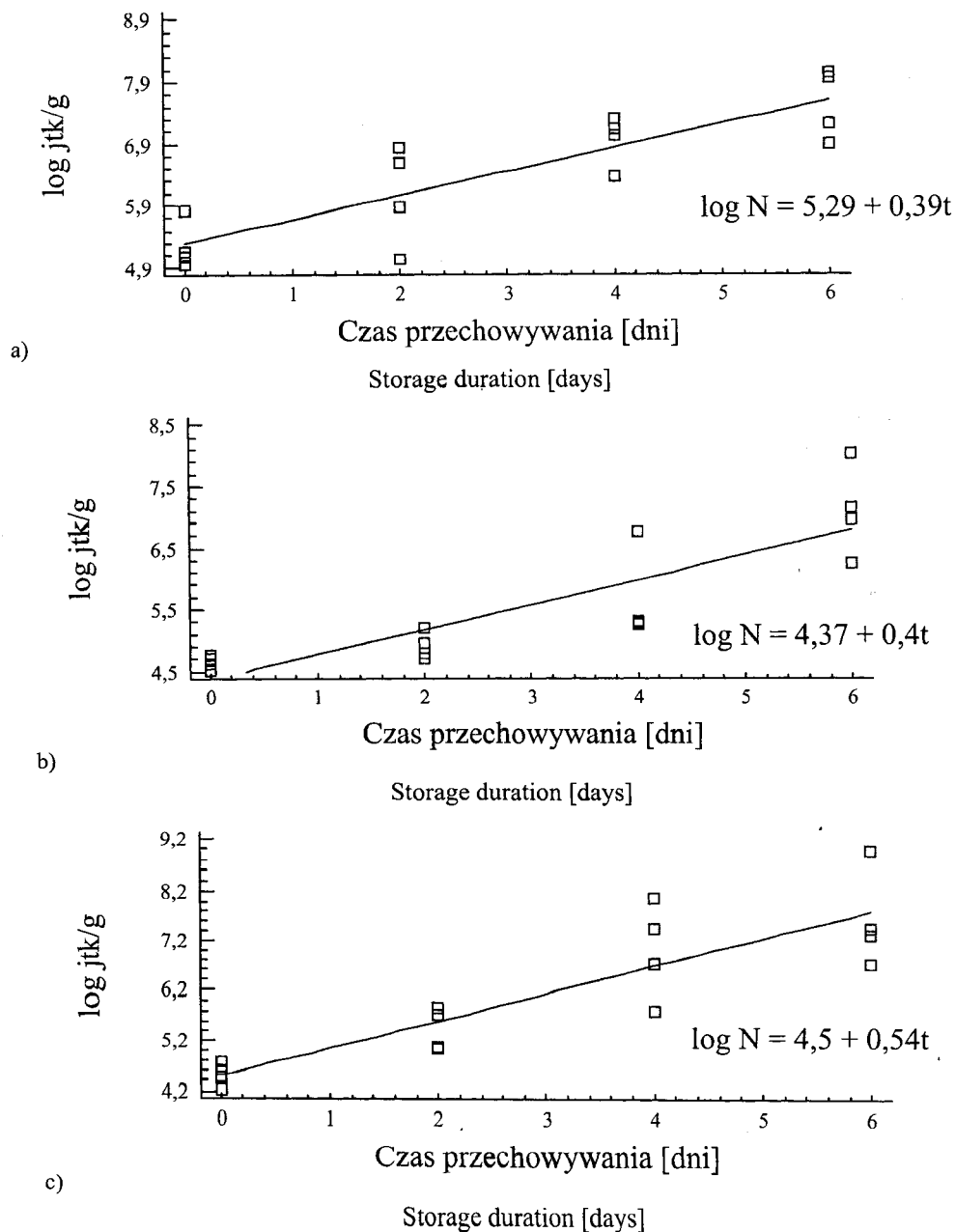
Wartości średnie oznaczone tymi samymi literami w kolumnach różnią się statystycznie istotnie: * na poziomie $\alpha = 0,05$ ** na poziomie $\alpha = 0,01$ / Mean values in the columns and denoted by the same letters significantly differ: * at a level of $\alpha = 0,05$ ** at a level of $\alpha = 0,01$,

a - istotność różnic w stosunku do tusz niesolonych / significant differences if compared with non-salted carcasses,

b - istotność różnic w stosunku do tusz solonych tradycyjnie / significant differences if compared with traditionally salted carcasses.

Przykładowe krzywe wzrostu przedstawiono na rys. 1., a wartości wybranych współczynników analizy statystycznej w tab. 2.

Stwierdzono, że solenie tradycyjne umożliwiło uzyskanie produktu, w którym wzrost ogólnej liczby drobnoustrojów (OLD) przebiegał wolniej w porównaniu z tuszami niesolonymi, w czasie przechowywania do 4 dni. W 6. dniu przechowywania nie wykazano istotnych różnic OLD pomiędzy próbkami.



Rys. 1. Liniowy model wzrostu, przeżywalności i inaktywacji ogólnej liczby drobnoustrojów (OLD) w tuszkach kurcząt: a) niesolonych, b) solonych tradycyjnie, c) solankowanych (8% NaCl / 0,5 h)

Fig. 1. A linear model of the growth, survival, and inactivation of the total count of bacteria (TPC) in chicken carcasses that were: a) non-salted; b) traditionally salted; and c) brine cured (8% NaCl / 0,5 h)

Zastosowanie solankowania w wybranych wariantach nie wpłynęło istotnie na ogólną liczbę drobnoustrojów w porównaniu z tuszami niesolonymi (tab. 1). Stosowanie solenia tradycyjnego sprawia, że wysokie stężenie NaCl występuje na zewnętrznych partiach tuszy kurcząt, na których stopień skażenia drobnoustrajami jest największy. Dlatego solenie tradycyjne, przez nacieranie solą, hamuje rozwój drobnoustrojów na powierzchni, co w konsekwencji prowadzi do istotnie niższej OLD. Podobne zależności zaobserwowali Tan i Shelef [8], badając trwałość mikrobiologiczną wieprzowiny. Wykazali oni, że dodatek 2% soli do mięsa przed przechowywaniem w temp. 2°C, pozwala przedłużyć trwałość o 7–14 dni.

Tabela 2

Wartości wybranych współczynników statystycznych krzywej regresji OLD.
Values of some selected statistical coefficients of the TPC regression curve.

Tuszki kurcząt Chicken carcasses	Współczynnik szybkości wzrostu (k) Growth Rate Coef- ficient (k)	Współczynnik determinacji (R ²) Coefficient of determination (R ²)	Współczynnik korelacji (r) (OLD/czas) Correlation coeffi- cient (r)	Odchylenie Standardowe (S) Standard deviation (S)
Niesolone / Non-salted	0,39	0,75	0,897	0,53
Solone tradycy- jnie / Traditionally salted	0,4	0,73	0,81	0,58
Solankowane / Brine cured				
6%/2h	0,26	0,54	0,81	0,61
7%/1h	0,3	0,43	0,65	0,83
8%/0,5h	0,54	0,77	0,87	0,71
9%/0,5h	0,37	0,64	0,80	0,66
10%/0,5h	0,29	0,40	0,64	0,85

Porównując metody solenia tradycyjnego i solankowania stwierdzono statystycznie istotnie niższą OLD w tuszach kurcząt przechowywanych, po zastosowaniu solenia tradycyjnego w czasie do 4 dni, w stosunku do wszystkich wariantów solankowania. Nie wykazano istotnych różnic w liczbie drobnoustrojów w tuszach przechowywanych 6 dni (tab. 1). W tuszach solankowanych występuje wyższa zawartość wody, co w czasie przechowywania stymuluje rozwój mikroorganizmów. Pastoriza i wsp. [4] wykazali, że solankowanie dorsza w solance 5% przez 5 min, a następnie przechowywanie w modyfikowanej atmosferze (50% CO₂: 45% N₂: 5% O₂) hamuje rozwój mikroorganizmów, przedłużając trwałość produktu. Jednak większy wpływ na trwałość mi-

robiologiczną dorsza miało przechowywanie produktu w modyfikowanej atmosferze niż zastosowanie solankowania przed pakowaniem.

Współczynnik szybkości wzrostu k wynosił w przypadku badanych wariantów od 0,26 do 0,54. Na jego podstawie można wnioskować, że największym tempem wzrostu charakteryzowały się drobnoustroje w tuszach poddanych solankowaniu w 8% solance przez 0,5 h ($k = 0,54$). Wysokie wartości współczynników determinacji świadczą o prawidłowym dopasowaniu funkcji (krzywej) do danych. Wartości współczynników korelacji wynosiły od 0,64 do 0,89 i świadczyły o istotnej zależności pomiędzy OLD a czasem przechowywania (tab. 2).

Na podstawie uzyskanych wyników można stwierdzić, że solenie tradycyjne i przechowywanie w czasie do 4 dni jest metodą prowadzącą do zahamowania rozwoju OLD. Solankowanie tusz kurcząt nie wpływa w istotny sposób na ich trwałość w stosunku do prób niesolonych, lecz prowadzi do pogorszenia jakości mikrobiologicznej tusz kurcząt w porównaniu z próbkami solonymi tradycyjnie.

Zmiany liczby psychrotrofów w tuszach kurcząt przechowywanych w warunkach chłodniczych

Oznaczono liczbę psychrotrofów w tuszach kurcząt niesolonych, solonych tradycyjnie i solankowanych i przechowywanych w temp. 4°C przez 6 dni. Wyniki uzyskane w doświadczeniu mikrobiologicznym przedstawiono w tab. 3.

Tabela 3

Liczba psychrotrofów [log jtk/g] w tuszach kurcząt przechowywanych w temp. 4°C.
The count of psychrotrophic bacteria [log cfu/g] in chicken carcasses stored at 4°C.

Tuszki kurcząt Chicken carcasses	Czas przechowywania [dni] Time of storage [days]							
	0		2		4		6	
	$x_{\bar{s}r}$	S	$x_{\bar{s}r}$	S	$x_{\bar{s}r}$	S	$x_{\bar{s}r}$	S
Niesolone Without salt	5,9	±0,4	6,7	±0,7	7,57	±0,27	8,01	±0,51
Solone tradycyjnie Traditionally salted	5,13 ^{a*}	±0,38	6,47	±0,54	6,68 ^{a**}	±0,34	7,7	±0,4
Solankowane Brine curried								
6%/2h	6,11	±0,82	6,497	±0,4	7,75 ^{b*}	±0,61	7,99	±0,49
7%/1h	6,12	±0,75	6,79	±0,4	7,24 ^{b*}	±0,16	8,19	±0,86
8%/0,5h	5,79	±0,49	6,195	±0,14	7,58 ^{b*}	±0,41	8,39	±0,17
9%/0,5h	6,09 ^{b*}	±0,47	6,295	±0,21	7,88 ^{b*}	±0,63	8,6 ^{b**}	±0,17
10%/0,5h	5,32	±1,03	6,76	±0,42	7,00	±0,33	8,67 ^{b**}	±0,08

Oznaczenia jak w tab. 1 / Denotation as in Tab. 1.

Na podstawie wyników zmian liczby psychrotrofów w tuszach kurcząt obliczono równania regresji prostoliniowej i wykreślono krzywe (modele) wzrostu OLP.

Równania krzywych wzrostu (modeli) OLP przedstawiają się następująco:

- tusze kurcząt świeże niesolone: $\log N = 5,97 + 0,36\lambda$ $R^2 = 0,79$;
- tusze kurcząt solone tradycyjnie: $\log N = 5,3 + 0,39\lambda$ $R^2 = 0,81$;
- tusze kurcząt solankowane w solance 6%/2h: $\log N = 6,05 + 0,34\lambda$ $R^2 = 0,66$;
- tusze kurcząt solankowane w solance 7%/1h: $\log N = 6,07 + 0,33\lambda$ $R^2 = 0,65$;
- tusze kurcząt solankowane w solance 8%/0,5h: $\log N = 5,62 + 0,46\lambda$ $R^2 = 0,84$;
- tusze kurcząt solankowane w solance 9%/0,5h: $\log N = 5,85 + 0,46\lambda$ $R^2 = 0,83$;
- tusze kurcząt solankowane w solance 10%/0,5h: $\log N = 5,4 + 0,51\lambda$ $R^2 = 0,79$.

Przykładowe krzywe wzrostu przedstawiono na rys. 2. Wartości wybranych współczynników analizy statystycznej przedstawiono w tab. 4.

Tabela 4

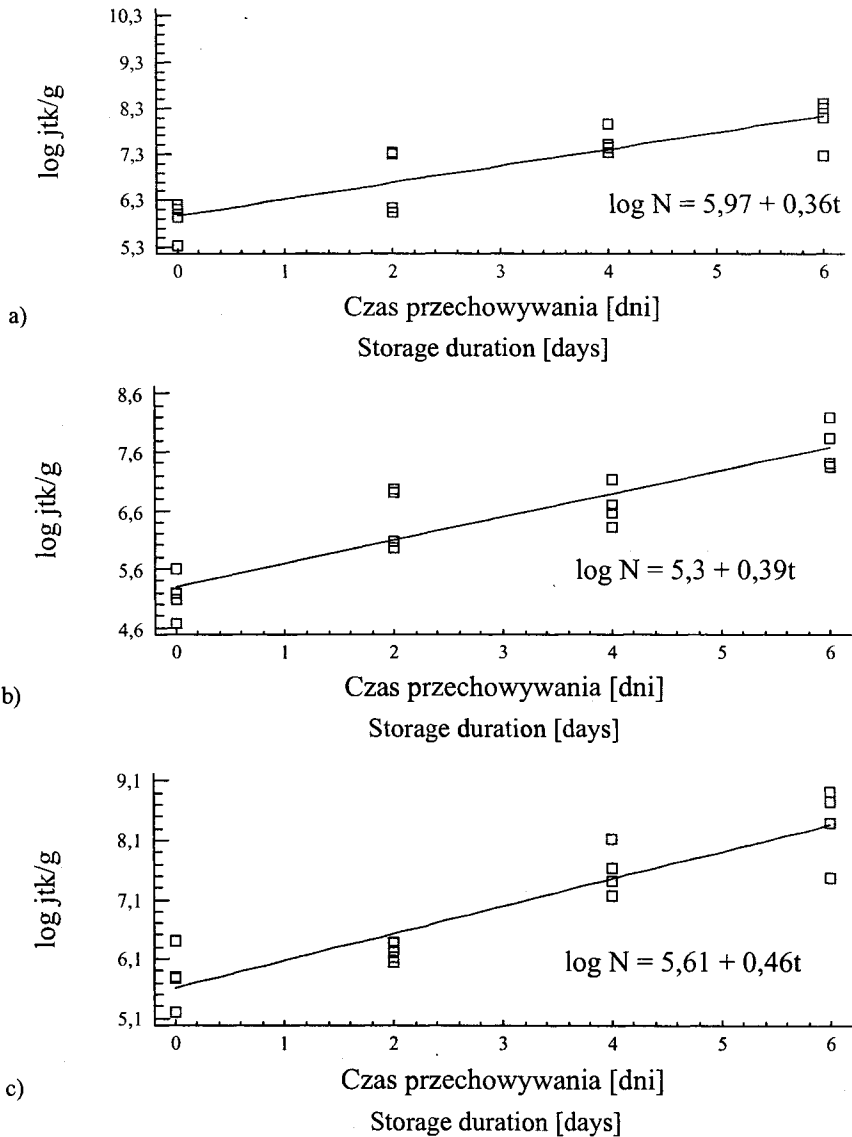
Wartości wybranych współczynników statystycznych krzywej regresji OLP.

Values of some selected statistical coefficients of the TPC regression curve (count of psychrotrophic bacteria)

Tuszki kurcząt Chicken carcasses	Współczynnik szybkości wzrostu (k) Growth Rate Coefficient (k)	Współczynnik determinacji (R^2) Coefficient of determination (R^2)	Współczynnik korelacji (r) (OLD/czas) Correlation coeffi- cient (r)	Odchylenie standardowe (S) Standard deviation (S)
Niesolone Non-salted	0,36	0,79	0,88	0,47
Solone tradycyjnie Traditionally salted	0,39	0,81	0,897	0,46
Solankowane Brine cured				
6%/2h	0,34	0,66	0,81	0,59
7%/1h	0,33	0,65	0,81	0,58
8%/0,5h	0,46	0,84	0,91	0,48
9%/0,5h	0,46	0,83	0,91	0,49
10%/0,5h	0,51	0,79	0,89	0,62

Na podstawie analizy wyników, przeprowadzonej testem U_R , stwierdzono brak statystycznie istotnych różnic w liczbie psychrotrofów pomiędzy tuszami niesolonymi i solankowanymi. Natomiast tusze solone tradycyjnie charakteryzowały się istotnie niższą liczbą psychrotrofów w stosunku do prób niesolonych w 4. dniu przechowywania i tuż po nasoleniu. Stosowanie solankowania roztworami o stężeniu powyżej 9%

wpływało na istotny wzrost liczby psychrotrofów w czwartym dniu przechowywania, w porównaniu z próbkami solonymi tradycyjnie (tab. 3).



Rys. 2. Liniowy model wzrostu, przeżywalności i inaktywacji liczby psychrotrofów w tuszach kurcząt: a) niesolonych, b) solonych tradycyjnie, c) solankowanych (8% NaCl / 0,5 h).

Fig. 2. A linear model of the growth, survival and inactivation of the psychrotrophic bacteria count in chicken carcasses that were: a) non-salted; b) traditionally salted; and c) brine cured (8% NaCl / 0,5 h).

Najwyższe wartości współczynników szybkości wzrostu psychrotrofów, w czasie przechowywania prób, obserwowano w tuszach kurcząt poddanych solankowaniu w solankach o stężeniu wyższym niż 8% (0,46–0,51). Wysokie współczynniki korelacji świadczą o wysoce istotnej prostoliniowej zależności między logarytmem liczby drobnoustrojów a czasem przechowywania. Wysokie wartości współczynników determinacji świadczą o dobrym dopasowaniu krzywej wzrostu do danych uzyskanych w badaniach (tab. 4).

Można zatem stwierdzić, że solenie tradycyjne w istotny sposób wpływa na utrzymanie odpowiedniej jakości mikrobiologicznej tusz kurcząt i ich trwałości w stosunku do prób niesolonych i solankowanych wg zaproponowanych wariantów. Wyniki te są konsekwencją zahamowania rozwoju drobnoustrojów na powierzchni tuszy, przez zastosowanie wysokiego stężenia soli na zewnętrznych partiach, w przypadku drobiu solonego tradycyjnie. Solankowanie kurcząt jest metodą, która nie wpływa w istotny sposób na jakość mikrobiologiczną i trwałość mięsa w stosunku do prób niesolonych.

Wnioski

1. Solenie tradycyjne istotnie hamuje rozwój drobnoustrojów w tuszach kurcząt przechowywanych przez 4 dni, w porównaniu z próbami niesolonymi i solankowanymi.
2. Nie wykazano istotnego wpływu solankowania na jakość i trwałość mikrobiologiczną tusz kurcząt w stosunku do prób niesolonych.

Literatura

- [1] Einarsson H.: Predicting the shelf life of cod (*Gadus morhua*) fillets stored in air and modified atmosphere at temperatures between -4°C and $+16^{\circ}\text{C}$, *Quality Assurance in the Fish Industry*. Huss I. i wsp. (ed), Elsevier Sci. Publ., 1992, p. 479.
- [2] Kijowski J.: Bezpieczeństwo zdrowotne i jakość żywieniowa mięsa drobiowego i jaj, *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2001, **4 (29) Supl.**
- [3] Kortz J.: Ocena i wykorzystanie surowców rzeźnych. Wyd. AR w Szczecinie, Szczecin 1997.
- [4] Pastoriza L., Sampedro G., Herrera J.J., Cabo M.L.: Influence of sodium chloride and modified atmosphere packing on microbiological, chemical, and sensorial properties in ice stored of slice of hake. *Food Chem.*, 1998, **1/2 (61)**, 23-28.
- [5] Praca zbiorowa pod red. Stobińskiej H., Żakowskiej Z.: *Mikrobiologia i higiena w przemyśle spożywczym*. Wyd. Politechniki Łódzkiej, Łódź 2000.
- [6] PN-82055-6: 1994: Mięso i przetwory mięsne. Badania mikrobiologiczne. Oznaczenie ogólnej liczby drobnoustrojów.
- [7] PN-89/A-82200: Mięso i przetwory mięsne. Badania mikrobiologiczne. Oznaczenie ogólnej liczby bakterii psychrotrofowych.
- [8] Tan W., Shelef L.A.: Effects of sodium chloride and lactates on chemical and microbiological changes in refrigerated and frozen fresh ground pork. *Meat Sci.*, 2002, **62**, 27-32.

- [9] Wachowicz I.: Próba optymalizacji parametrów solankowania i rozmrażania solankowego kurcząt. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2001, **2(27) Supl.**
- [10] Volk W.: Statystyka stosowana dla inżynierów. WNT, Warszawa 1975.

THE EFFECT OF BRINE CURE ON THE MICROBIOLOGICAL QUALITY OF CHICKEN MEAT

S u m m a r y

The main objective of this study was to assess the effect of brine curing and traditional salting processes on the microbiological quality of chicken carcasses. The total plate count of bacteria and count of psychrotrophic bacteria were determined for the purposes of the investigations. The microbiological analyses were conducted as soon as the technological processes were completed, and also after the 2-, 4-, and 6-day storage of meat at 4°C. On the basis of the results obtained it was stated that the traditional salting process of chicken carcasses and their storing during a maximum 4-day period inhibited the growth of psychrotrophic bacteria in them. However, the brine cure performed on the chicken carcasses did not significantly influence the meat quality and durability/stability if compared with the non-salted chicken meat. Furthermore, the traditionally salted poultry meat showed a reduced psychrotrophic bacteria count on the 4th day of its storing if compared with the non-salted and brine cured poultry meat. Thus, the conclusion is that the traditional salting of chicken carcasses inhibits the growth of microorganisms if the poultry meat is stored from 0 to 4 days at 4°C, comparing to non-salted and brine cured carcasses of chicken. The investigations performed proved no significant impact of brine cure on the microbiological quality of chicken meat comparing to non- salted chicken samples.

Key words: chicken meat, brine cure, microbiological quality. ✕

JOANNA WILCZEWSKA, JAN KŁOBUKOWSKI, JERZY SZPENDOWSKI

WPLYW SPOSOBU KOAGULACJI NA BIODOSTĘPNOŚĆ WAPNIA I FOSFORU Z PERMEATÓW OTRZYMANÝCH PRZY PRODUKCJI SERÓW TWAROGOWYCH METODĄ ULTRAFILTRACJI

Streszczenie

Celem pracy było określenie w badaniach modelowych, z wykorzystaniem szczurów, biodostępności wybranych składników mineralnych z diet zawierających permeat kwasowo-podpuszczkowy oraz permeat kwasowy otrzymane podczas produkcji serków twarogowych. Biodostępność pierwiastków określono na wystandaryzowanych rosnących szczurach szczepu Wistar i wyrażono jako absorpcję pozorną (A) oraz retencję pozorną (R) na podstawie bilansu spożycia wapnia i fosforu oraz wydalania ich z kałem i moczem. Diety zostały skomponowane tak, aby permeat stanowił jedyne źródło danego składnika mineralnego w diecie (dodatek odpowiedniej mieszanki mineralnej). W permeacie, dietach, kale i moczu, po mineralizacji na mokro, oznaczano zawartość wapnia metodą ASA stosując spektrofotometr absorpcji atomowej oraz fosforu metodą kolorymetryczną. Wykazano znacznie wyższe wartości współczynników absorpcji i retencji pozornej wapnia oraz fosforu w grupach szczurów karmionych dietami z dodatkiem permeatu kwasowo-podpuszczkowego. Wyniki wskazują na to, iż sposób koagulacji mleka ma istotny wpływ na biodostępność wapnia i fosforu z diet zawierających badane permeaty. Sugeruje się przemysłowe zagospodarowanie permeatu kwasowo-podpuszczkowego jako cennego źródła wysoce przyswajalnego wapnia i fosforu, np. do wzbogacania żywności.

Słowa kluczowe: permeat, wapń, fosfor, biodostępność, absorpcja, retencja.

Wprowadzenie

W ostatnim dziesięcioleciu w polskim mleczarstwie szeroko rozwinęły się techniki membranowe, a w szczególności ultrafiltracja stosowana głównie w produkcji serków twarogowych. Permeat jest roztworem, który przechodzi przez membrany podczas procesu ultrafiltracji mleka lub serwatki. Zawiera głównie laktozę, składniki mineralne, a także witaminy [20]. Stanowi duże zagrożenie ekologiczne i nie może być

bezpośrednio zrzucany do ścieków. Ze względu na znaczną zawartość wapnia, magnezu oraz fosforu, permeat będący produktem ubocznym może być znaczącym źródłem tych pierwiastków w diecie.

Celem pracy było oznaczenie zawartości wapnia i fosforu w badanych permeatach oraz określenie, w badaniach modelowych z wykorzystaniem szczurów, biodostępności wybranych składników mineralnych – wapnia i fosforu, z diet zawierających permeat kwasowy oraz permeat kwasowo-podpuszczkowy, otrzymanych podczas produkcji serków twarogowych.

Materiał i metody badań

W przeprowadzonych badaniach modelowych materiałem doświadczalnym był permeat kwasowy oraz kwasowo-podpuszczkowy, uzyskane jako produkt uboczny w procesie produkcji serków twarogowych metodą ultrafiltracji. Permeat z trzech partii produkcyjnych mieszano, poddawano procesowi liofilizacji do 1,5–2% wilgotności oraz przechowywano w szczelnie zamkniętych szklanych pojemnikach w temp. 4–5°C.

Cykl badawczy obejmował oznaczenie zawartości badanych pierwiastków w permeatach oraz 10-dniowe doświadczenie żywieniowe, oparte o bilans składnika mineralnego w przewodzie pokarmowym i organizmie zwierząt. Doświadczenie żywieniowe przeprowadzano na 24 wystandaryzowanych szczurach (samcach) szczepu Wistar. Początkowa masa zwierząt wahała się w granicach od 81,0 do 89,0 g. Zwierzęta podzielono na 4 grupy doświadczalne (po 6 osobników w każdej) tak, aby w tej samej grupie nie znalazły się osobniki z jednego miotu. Przed podziałem zwierząt na grupy szczury poddawano trzydniowej adaptacji w celu wyrównania masy ciała żywiąc je ad libitum dietą kazeinową.

Szczury żywiono dietami o następującym składzie podstawowym: białko (kazeina beztłuszczowa) – 14,09% (N x 6,38), tłuszcz (olej sojowy) – 8,0%, mieszanina witamin – 1,0% [1], zmodyfikowana mieszanka soli mineralnych – 4% [12], skrobia ziemniaczana – 5,0%, skrobia kukurydziana jako komponent uzupełniający do 100 g suchej masy diety. Przy bilansowaniu białka nie brano pod uwagę nieznaczących ilości związków azotowych obecnych w permeatach. Składniki diet dokładnie mieszano ręcznie, a następnie w młynku elektrycznym. Diety oznakowano umownie AR(Ca), A(Ca), AR(P), A(P). Skomponowane zostały tak, aby permeat stanowił jedyne źródło danego składnika mineralnego w diecie (dodatek odpowiedniej mieszanki mineralnej). Diety AR(Ca) i AR(P) zawierały dodatek permeatu kwasowo-podpuszczkowego, A(Ca) i A(P) – permeatu kwasowego, przy czym w dietach AR(Ca) i A(Ca) dodawana mieszanka soli mineralnych była pozbawiona wapnia, natomiast w dietach AR(P) i A(P) fosforu. Skład diet doświadczalnych podano w tab. 1.

Tabela 1

Skład diet doświadczalnych stosowanych w badaniach [g/100 g suchej masy diety].
Composition of experimental diets used in the studies [g/100 g of diet dry matter].

Składnik Component	AR (Ca)	A (Ca)	AR (P)	A (P)
Kazeina / Casein	14,09	14,09	14,09	14,09
Permeat / Permeate	24,78	24,81	31,48	32,84
Olej sojowy / Soybean oil	8,00	8,00	8,00	8,00
Mieszanka witamin Vitamin mixture	1,00	1,00	1,00	1,00
Mieszanka skł. mineralnych Mineral mixture	4,00*	4,00*	4,00**	4,00**
Skrobia ziemniaczana Potato starch	5,00	5,00	5,00	5,00
Skrobia kukurydziana Corn starch	43,13	43,10	36,43	35,07

* mieszanka soli mineralnych pozbawiona wapnia [g/100 g] (NRC USA, 1976)

K_2HPO_4 - 8,1 g, K_2SO_4 - 6,8 g, NaCl - 3,06g, Na_2HPO_4 - 2,14 g, MgO - 2,50 g, mikroelementy - 1,80g, sacharoza - 75,6 g;

*calcium-free salt mixture (NRC USA, 1976)

K_2HPO_4 - 8,1 g, K_2SO_4 - 6,8 g, NaCl - 3,06g, Na_2HPO_4 - 2,14 g, MgO - 2,50 g, microelements - 1,80g, saccharose - 75,6 g;

**mieszanka soli mineralnych pozbawiona fosforu [g/100 g] (NRC USA, 1976)

K_2SO_4 - 6,8 g, NaCl - 3,06 g, $CaCO_3$ - 2,1 g, MgO - 2,5 g, mikroelementy - 1,8 g, sacharoza - 83,74 g

** phosphorus-free salt mixture (NRC USA, 1976);

K_2SO_4 - 6,8 g, NaCl - 3,06 g, $CaCO_3$ - 2,1 g, MgO - 2,5 g, microelements - 1,8 g, saccharose - 83,74 g

W celu oznaczenia biodostępności wapnia i fosforu przez 5 dni okresu właściwego trwania doświadczenia zbierano codziennie niewyjadki, prowadzono codzienną kolekcję kału i moczu. Po zakończeniu okresu właściwego kał zbierano, suszono, oczyszczano i po zmieleniu poddawano analizom.

Doświadczenie prowadzono w następujących warunkach: temp. powietrza 20–22°C, wilgotność względna 50–60%, pomieszczenie oświetlane przez 12 h, kolejne 12 h panowały w nim ciemności.

W permeacie, dietach, kale i moczu, po mineralizacji na mokro, oznaczano zawartość wapnia metodą płomieniowej spektrometrii absorpcji atomowej (płomień acetylen-powietrze) [18] i zawartość fosforu metodą kolorymetryczną (molibdenianową z

hydrochinonem i siarczynem sodowym) [18]. Oznaczając zawartość Ca ogółem, w celu wyeliminowania oddziaływania fosforu, do wszystkich próbek i wzorców dodawano roztwór chlorku lantanu w ilości zapewniającej 1% stężenie La^{3+} w badanych roztworach. Do badań stosowano spektrofotometr absorpcji atomowej Unicam 939 Solar wyposażony w stację danych ADAX, korekcję tła oraz odpowiednie lampy katodowe.

Biodostępność pierwiastków wyrażono współczynnikami absorpcji (A) i retencji (R) pozornej, obliczonymi na podstawie wielkości ich spożycia oraz wydalania z kałem i moczem według wzorów:

$$A \text{ (mg/5dni)} = S_{\text{spoż}} - S_k; \quad A \text{ (\%)} = (S_{\text{spoż}} - S_k) / S_{\text{spoż}} \times 100;$$

$$R \text{ (mg/5dni)} = S_{\text{spoż}} - (S_k + S_m); \quad R \text{ (\%)} = [S_{\text{spoż}} - (S_k + S_m)] / S_{\text{spoż}} \times 100;$$

A – absorpcja pozorna / A – apparent absorption, R – retencja pozorna / R – apparent retention, $S_{\text{spoż}}$ – ilość spożytego składnika mineralnego / $S_{\text{spoż}}$ – mineral intake, S_k – ilość składnika wydalonego z kałem / S_k – fecal excretion, S_m – ilość składnika wydalonego z moczem / S_m – urinary excretion.

Uzyskane wyniki poddano analizie statystycznej korzystając z pakietu Statistica v.6.0. Obliczono wartości średnie, odchylenie standardowe, natomiast istotność różnic pomiędzy grupami badano testem t-Studenta, przy poziomie istotności $p \leq 0,05$ [6].

Wyniki i dyskusja

Permeat kwasowo-podpuszczkowy zawierał 1,096 mg/g wapnia oraz 0,678 mg/g fosforu, natomiast średnia zawartość tych pierwiastków w permeacie kwasowym wynosiła odpowiednio Ca – 1,176 mg/g, oraz P – 0,698 mg/g (tab. 2). Nieznacznie wyższe zawartości badanych makropierwiastków stwierdzono w permeacie kwasowym. Na zawartość pierwiastków w odciekach wpływ miał rodzaj zastosowanej koagulacji białka podczas produkcji serków twarogowych. Jak podają autorzy [5, 13, 19], zastosowanie koagulacji enzymatycznej powoduje zatrzymanie większych ilości wapnia i fosforu w skrzepie, a co za tym idzie zmniejszoną ich zawartość w permeacie kwasowo-podpuszczkowym.

W permeatach nie stwierdzono tłuszczu, co potwierdzają liczne badania. Niewielka zawartość związków azotowych związana jest ze specyfiką procesu ultrafiltracji [14]. Większa zawartość laktozy znajdowała się w permeacie kwasowo-podpuszczkowym (tab. 2). Według danych źródłowych jest to związane z procesem fermentacji laktozy do kwasu mlekowego, który w pełni skoagulował kazeinę. Podczas koagulacji kwasowo-podpuszczkowej, jako koagulant występują również enzymy proteolityczne preparatu podpuszczkowego [13, 19]. W permeacie kwasowym stwierdzono wyższą zawartość popiołu (0,73%) w porównaniu z permeatem kwasowo-podpuszczkowym (0,54%). Zjawisko to można tłumaczyć większym stopniem związania przez kwas mlekowy pierwiastków składających się na popiół. Rozpuszczone

sole kwasu mlekowego przechodząc do permeatu zwiększają w nim poziom popiołu [13, 19]. Większa zawartość kwasu mlekowego (pH 4,61) w permeacie kwasowym, w porównaniu z permeatem kwasowo-podpuszczkowym (pH 4,68) wpłynęła proporcjonalnie na wzrost zawartości popiołu.

Tabela 2

Wybrane wyróżniki fizykochemiczne permeatu.
Some physical and chemical properties.

Wyróżniki fizykochemiczne Physical and chemical parameters	Permeat kwasowo-podpuszcz. AR Acid and rennet permeate	Permeat kwasowy A Acid permeate
pH	4,68	4,55
Gęstość [g/cm ³] Density	1,026	1,027
Sucha masa [%] Total solids	4,85	5,21
Białko [%] Proteins	0,10	0,25
Laktoza [%] Lactose	4,20	3,95
Popiół [%] Ash	0,54	0,73
Ca [mg/g]	1,096	1,176
Ca w liofilizacie [mg/g] Ca in lyophilisate	22,598	22,570
P [mg/g]	0,678	0,698
P w liofilizacie [mg/g] P in lyophilisate	13,979	13,402

Pokrycie potrzeb organizmu na składniki mineralne zależy od ich zawartości w diecie oraz od możliwości ich wykorzystania przez organizm, czyli od biodostępności. Biodostępność składników mineralnych definiujemy za Brzozowską [2, 3] jako stopień, w jakim spożyty składnik odżywczy, po uwolnieniu z połączeń występujących w pokarmie, może być wchłonięty w przewodzie pokarmowym i wykorzystany przez organizm.

Wyniki otrzymane w badaniach na szczurach dotyczące spożycia wapnia i fosforu oraz ich wydalania z kałem i moczem, a także wartości absorpcji i retencji pozornej wyrażonych w mg/5 dni oraz w jednostkach procentowych podano w tab. 3.

Tabela 3

Spożycie makroelementów oraz ich wydalanie z kałem i moczem.
Intake of the macroelements and their excretion in excrements and urine.

Wyszczególnienie / Specification	AR (Ca)	A (Ca)	AR (P)	A (P)
Spożycie diety [mg/5 dni] Diet intake [mg/5 days]	96,9±4,2 ^a	88,0±4,6 ^a	95,0±1,8 ^A	93,9±2,3 ^A
Spożycie składnika mineralnego [mg/5 dni] Mineral intake [mg/5 days]	1059,5±12,3 ^a	983,3±42,9 ^a	733,7±22,8 ^A	972,6±31,6 ^B
Ilość składnika wydalonego z kałem [mg/5 dni] Fecal excretion [mg/5 days]	510,2±40,9 ^a	663,9±71,9 ^b	261,7±19,5 ^A	489,9±41,2 ^B
Ilość składnika wydalonego z moczem [mg/5 dni] Urinary excretion [mg/5 days]	25,2±4,0 ^a	33,9±3,8 ^b	152,3±15,01 ^A	302,3±20,6 ^B
Absorpcja pozorna [mg/5 dni] Apparent absorption [mg/5 days]	549,3±31,0 ^a	322,8±43,8 ^b	471,6±16,0 ^A	482,7±20,7 ^A
Absorpcja [%] Apparent absorption	51,8±3,5 ^a	32,8±4,9 ^b	64,3±2,1 ^A	49,7±3,5 ^B
Retencja pozorna [mg/5 dni] Apparent retention [mg/5 days]	524,1±27,2 ^a	288,9±43,6 ^b	319,3±12,0 ^A	180,5±26,4 ^B
Retencja [%] Apparent retention	49,5±3,1 ^a	29,4±5,1 ^b	43,6±2,6 ^A	18,6±3,2 ^B

a,b lub A, B – różnice statystycznie istotne ($\alpha \leq 0,05$),

a,b or A, B – values are statistically significantly different ($\alpha \leq 0,05$),

a, a lub A, A – brak różnic statystycznie istotnych ($\alpha \leq 0,05$),

a, a or A, A – no values statistically significantly different ($\alpha \leq 0,05$).

Wykazano większe spożycie wapnia w grupie zwierząt żywionych dietami zawierającymi permeat kwasowo-podpuszczkowy oraz istotnie mniejsze spożycie fosforu przez zwierzęta karmione dietami z permeatem kwasowo-podpuszczkowym w porównaniu z grupami szczurów żywionych dietami zawierającymi dodatek permeatu kwasowego ($p \leq 0,05$). Zanotowano istotnie wyższe wydalanie obydwu pierwiastków, zarówno z kałem jak i z moczem, w grupach zwierząt karmionych permeatem kwasowym. Można stwierdzić, że im wyższe było spożycie fosforu, tym większe wydalanie tego pierwiastka z kałem oraz z moczem. Ilość składnika wydalana z kałem obejmuje ilość wydalaną z sokami trawiennymi, a także tę, która nie zostaje wchłonięta z diety z powodu przekroczenia możliwości absorpcyjnych śluzówki, działania mechanizmów homeostazy, a także obecności składników diety utrudniających bądź też ułatwiających absorpcję [3]. Oznaczono całkowitą ilość badanych składników mineralnych w kałe, co umożliwiło określenie absorpcji pozornej, rozumianej jako bilans składnika w obrębie przewodu pokarmowego.

Absorpcja pozorna wapnia (w przeliczeniu na szczura na 5 dni) wynosiła 549,3 mg w doświadczeniu z permeatem kwasowo-podpuszczkowym i 322,8 mg z permeatem kwasowym. Wartość współczynnika absorpcji pozornej kształtowała się odpowiednio na poziomie 51,8% AR(Ca) i 32,8% A(Ca). Stwierdzono statystycznie istotnie ($p \leq 0,05$) mniejszą absorpcję pozorną wapnia u zwierząt żywionych dietą z dodatkiem permeatu kwasowego. Szczury spożywające diety z dodatkiem permeatu kwasowego zatrzymywały zdecydowanie mniej wapnia w organizmie w porównaniu z grupą karmioną dietą z permeatem kwasowo-podpuszczkowym. Nie zanotowano istotnych statystycznie ($p \leq 0,05$) różnic w wartościach absorpcji pozornej fosforu wyrażonej w mg/5 dni między obydwoma grupami zwierząt. Istotnie niższa była natomiast retencja pozorna tego składnika w grupie zwierząt spożywających dietę zawierającą dodatek permeatu kwasowego. Zaobserwowano również istotnie niższe wartości obydwu współczynników wyrażone w procentach, zarówno wapnia jak i fosforu, w przypadku grup zwierząt karmionych dietą z dodatkiem permeatu kwasowego.

Istotny wpływ na biodostępność składników mineralnych ma wielkość ich spożycia w pokarmie. Liczne badania wykazały, że zwiększenie ilości wapnia w diecie powoduje znaczne obniżenie procentowych wartości współczynników absorpcji [4].

Na wykorzystanie wapnia w organizmie w znacznym stopniu wpływa forma fizykochemiczna, w jakiej pierwiastki są wprowadzane do organizmu człowieka lub zwierzęcia. Za najbardziej dostępne uważa się formy rozpuszczalne oraz te, które występują w stanie zjonizowanym. Zauważono również lepsze wchłanianie wapnia z mieszaniny soli organicznych [11]. Natomiast inni autorzy nie zaobserwowali istotnych różnic w jelitowym wchłanianiu soli wapnia różniących się stopniem rozpuszczalności u ludzi i szczurów [7, 8].

Przyrost kwasowości mleka (obniżenie pH) powoduje przechodzenie koloidalnych form wapnia w związki rozpuszczalne, głównie w formę jonową. Gdy kwasowość czynna wynosi pH 5, prawie cały wapń zawarty w mleku przechodzi w związki rozpuszczalne [13, 19]. Można zatem stwierdzić, że im niższe pH permeatu, tym wyższy jest stopień zjonizowania wapnia.

Przyswajalność wapnia zależy także od innych soli zawartych w diecie. Stwierdzono, że spożywanie chlorków sodu i potasu oraz siarczanów, węglanów i wodorowęglanów tych pierwiastków istotnie wpływa na zwiększenie wydalania wapnia z moczem [9].

Wchłanianie fosforu z pożywienia rośnie wraz ze wzrostem jego zawartości w diecie i jest ono wprost proporcjonalne nawet do wartości 3,1 g fosforu na dzień. Wchłanianie fosforu z diety w dużej mierze zależy od połączeń tego pierwiastka z innymi związkami. Stwierdzono, że przyswajalność fosforu związanego z fitynianami jest bardzo mała, ze względu na niski stopień hydrolizy tego kompleksu w przewodzie pokarmowym. Natomiast nieorganiczne fosforany wykorzystywane w przetwórstwie

żywności łatwo ulegają hydrolizie w przewodzie pokarmowym, stąd ich udział w ogólnej ilości fosforu jest większy niż fosforu naturalnie występującego w produktach spożywczych. Na wchłanianie i wydzielanie fosforu, podobnie jak i na regulację gospodarki wapniem, w ustroju wpływają parathormon i witamina D [3, 9].

Fosfor w znacznym stopniu obniża wydalanie wapnia z moczem. Ze względu na powiązanie metabolizmu fosforu i wapnia konieczne jest więc przestrzeganie w dietach właściwego stosunku między tymi pierwiastkami. W mleku wynosi on 1,2:1 i jest wysoce korzystny dla organizmu człowieka [13, 14, 19]. W przypadku badanych permeatów stosunek ten wyniósł od 1,7:1 – permeat kwasowy i 1,6:1 – permeat kwasowo-podpuszczkowy.

Badane permeaty dodane do diet doświadczalnych zawierały znaczne ilości laktozy. Mogła ona w istotny sposób wpływać na wartości współczynników biodostępności wapnia oraz fosforu [4, 15, 17]. Wykazano wzrost wchłaniania wapnia spowodowany obecnością laktozy. Laktoza współdziała z błoną kosmkową, powodując podwyższenie przepuszczalności błony śluzowej jelita przez zmianę polaryzacji [11, 16]. U osób z brakiem laktazy wyniki te są inne [10]. Rezultaty niniejszych badań potwierdziły, że biodostępność wapnia jest wyższa w przypadku permeatu kwasowo-podpuszczkowego, zawierającego nieco większą ilość laktozy, niż permeat kwasowy.

Wnioski

1. Uzyskane wyniki wskazują, iż sposób koagulacji mleka ma istotny wpływ na biodostępność wapnia i fosforu z diet zawierających badane permeaty. Wykazano bowiem znacznie wyższe wartości współczynników absorpcji i retencji pozornej wapnia oraz fosforu w grupach szczurów karmionych dietami z dodatkiem permeatu kwasowo-podpuszczkowego.
2. Sugeruje się przemysłowe zagospodarowanie permeatu kwasowo-podpuszczkowego jako cennego źródła wysoce przyswajalnego wapnia i fosforu, np. do wzbogacania żywności.

Literatura

- [1] AOAC, Official Methods of Analysis 12th ed. Association of Official Analytical Chemists. Washington DC 1975.
- [2] Brzozowska A.: Procesy technologiczne a biodostępność składników mineralnych z produktów spożywczych, *Przem. Spoż.*, 1996, **10**, 33-35.
- [3] Brzozowska A., Składniki mineralne w organizmie, SGGW, Warszawa 2000.
- [4] Buchowski M.S., Miller D.D.: Lactose, calcium source and age affect calcium bioavailability in rats. *J. Nutr.*, 1991, **121**, 1746-1754.
- [5] Fuente M.A.: Changes in the mineral balance of milk submitted to technological treatments, *Trends Food Sci. Technol.*, 1998, **9**, 281-288.
- [6] Gawęcki J., Wagner W.: Podstawy metodologii badań doświadczalnych w nauce o żywności, PWN, Warszawa 1984.

- [7] Goddard M., Young G., Marcus R.: Short- term effect of calcium – parathyroid axis in normal elderly men and woman. *Am. J. Clin. Nutr.*, 1996, **44**, 653-658.
- [8] Greger J.L.: Mineral utilization by rats fed various commercially available calcium supplements or milk, *J. Nutr.*, 1987, **117**, 717-724.
- [9] Kaup S.M., Greger J.L.: Effect of various chloride salts on the utilization of phosphorus, calcium and magnesium. *J. Nutr. Biochem.*, 1990, **1**, 542-548.
- [10] Krześniak I., Rutkowska U.: Współczesne poglądy na wzbogacanie produktów mleczarskich w wapń. *Żyw. Człow. Metab.*, 1995, **2**, 192-193, 198.
- [11] Miller S.C., Miller M.A., Omura T.H.: Dietary lactose improves endochondral growth and bone development and mineralization in rats fed a vitamin D – deficient diet. *J. Nutr.*, 1988, **118**, 72-77
- [12] NRC. National Research Council, Nutrient Requirement of Domestic Animals. Nutrient Requirement of Laboratory Animals. 10th ed. National Academy Science, Washington DC 1978.
- [13] Pijanowski E., Zmarlicki S.: Zarys chemii i technologii mleczarstwa, PWRiL. Warszawa 1980.
- [14] Renner E., Abd El-Salam M. H.: Application of ultrafiltration in the dairy industry. Elsevier Applied Science. London 1991.
- [15] Schaafsma G.: Bioavailability of calcium and magnesium., *Eur. J. Clin.*, 1997, **51**, 13.
- [16] Schaafsma G.: Extracellular calcium homeostasis, *Bulletin FIL/IDF*, 1991, 255.
- [17] Schaafsma G.: Nutritional aspects of yogurt. Bioavailability of essential minerals and trace elements., *Neth. Milk Dairy J*, 1988, **42**, 135.
- [18] Whiteside P.J.: Atomic Absorption- Data Book. Cambridge 1976 .
- [19] Ziajka S. (pod red.): Mleczarstwo – zagadnienia wybrane. T. II, ART. Olsztyn 1997.
- [20] Zadow, J.G.: In: *Modern Dairy Technology*, Vol. 1, *Advances in milk Processing*, R.K. Robinson (ed.), Elsevier Appl. Sci. Publ. London 1986, p. 273.

THE INFLUENCE OF COAGULATION PROCESS ON BIOAVAILABILITY OF CALCIUM AND PHOSPHORUS FROM PERMEATE OBTAINED DURING ULTRAFILTRATION OF TVOROG

S u m m a r y

The aim of the study was to determine bioavailability of some mineral components – calcium and phosphorus from diets containing acid permeate and acid rennet permeate obtained as tvorog production by-products. Bioavailability of minerals was determined by balance method, using growing Wistar rats and expressed by apparent absorption (A) and apparent retention (R) indices, on the base of calcium and phosphorus intake and their fecal and urinary excretion. The diets were composed in such a way as to ensure that permeate constituted the only source of a given mineral component in any diet (addition of a proper mineral mix). Permeate, diets, excrements and urine were wet ashed and then tested for calcium content by ASA method with the help of an atomic absorption spectrofotometer, while the level of phosphorus was determined by colorimetric method. Statistical differences between values of calcium A and R indices for both permeate were observed. The results confirmed the higher apparent absorption and apparent retention of calcium and phosphorus from acid and rennet permeate than from acid one. The way of milk coagulation significantly influenced on bioavailability of calcium and phosphorus from diets containing the tested permeates. The results indicate that acid rennet permeate can be recommended to fortification of food in the calcium and phosphorus. Permeate should therefore be used commercially as a valuable source of highly available elements.

Key words: permeate, calcium, phosphorus, bioavailability, absorption, retention. ☒

RAFAŁ WOŁOSIAK

PORÓWNANIE WŁAŚCIWOŚCI PRZECIWUTLENIAJĄCYCH PREPARATÓW KAROTENOIDÓW UZYSKANYCH Z OWOCÓW POMIDORA I PAPRYKI

Streszczenie

Badano aktywność przeciwutleniającą preparatów karotenoidów pomidora, papryki oraz β -karotenu wobec wolnych rodników, w procesie autooksydacji kwasu linolowego oraz w reakcji enzymatycznej katalizowanej przez lipooksygenazę. Stwierdzono lepsze właściwości β -karotenu w zastosowanych układach oksydacyjnych w odniesieniu do pozostałych preparatów. Preparat ten wykazywał 100% aktywności zastosowany w ilości 15 mg% wobec wolnych rodników, a także całkowicie hamował reakcję autooksydacji kwasu linolowego oraz enzymatycznego utleniania przez lipooksygenazę. W stosunku do wolnych rodników i w reakcji autooksydacji niewiele gorsze właściwości wykazywał preparat karotenoidów pomidora, podczas gdy preparat karotenoidów papryki miał wyraźnie mniejszą aktywność. Wszystkie badane karotenoidy najstabiliej hamowały powstawanie wtórnych produktów utleniania (preparat z pomidora do 10%, β -karoten do 30%), a preparat z owoców papryki wykazał tendencje prooksydacyjne w wyższych stężeniach. Zmiana układu, w którym prowadzono reakcję enzymatyczną, z jednofazowego na emulsyjny spowodowała wyraźne polepszenie działania preparatów.

Słowa kluczowe: karotenoidy, pomidor, papryka, β -karoten, przeciwutleniacz, wolne rodniki, autooksydacja, lipooksygenaza.

Wstęp

Procesy oksydacyjne zachodzące w produktach żywnościowych podczas ich przerobu i przechowywania w poważnym stopniu ograniczają ich trwałość i wartość żywieniową [1, 2]. Powszechnie stosowanym sposobem zapobiegania niekorzystnym zmianom oksydacyjnym jest stosowanie przeciwutleniaczy [16]. Do naturalnych substancji o dużej skuteczności hamowania reakcji utleniania należą karotenoidy, jednak dotychczas zwracano przede wszystkim uwagę na ich zdolność do dezaktywacji tlenu singletowego [8, 15]. Niektórzy autorzy prowadzili także prace nad zdolnością karote-

noidów do „zmiatania” rodników. Była ona uzależniona od ilości i przestrzennego ułożenia podwójnych wiązań w ich cząsteczkach. W badaniach z użyciem kwasu 2,2'-azynobis-(3-etylobenzotiazolino-6-sulfonowego), jako źródła rodników, stwierdzono następujące uszeregowanie aktywności przeciwrodnikowej badanych karotenów: likopen > β -karoten > α -karoten, podczas gdy w układach oksydacyjnych innego typu ta kolejność ulegała zmianie [3]. Podstawienie pierścieni grupami polarnymi, np. karbonylową lub hydroksylową, różnie wpływa na aktywność karotenoidów. Efekt ten jest w dużym stopniu uzależniony od środowiska, w jakim prowadzi się reakcję [5].

Celem niniejszej pracy było zbadanie właściwości preparatów karotenoidów o różnej budowie wobec wolnych rodników, w reakcji autooksydacji oraz w procesach utleniania katalizowanych enzymatycznie prowadzonych w układach jednofazowym i emulsyjnym.

Materiał i metody badań

W badaniach zastosowano preparaty karotenoidów z owoców pomidora (gdzie w przewodzie występuje acykliczny karoten - likopen), papryki (której głównym karotenoidem jest ksantofil kapsantyna, zawierająca atomy tlenu w formie grup ketonowych i hydroksylowych) oraz, w celach porównawczych, jeden z najbardziej rozpowszechnionych w przyrodzie karotenoidów, β -karoten w formie syntetycznego preparatu.

Preparaty karotenoidów z owoców pomidora i papryki uzyskano metodą dwukrotnej ekstrakcji heksanem surowca poddanego homogenizacji i odwodnieniu przez dodatek bezwodnego siarczanu(VI) sodu (stosunek masowy homogenizatu i $\text{Na}_2\text{SO}_4 = 1:2$). Heksan odparowywano pod zmniejszonym ciśnieniem, a otrzymane preparaty przepłukiwano strumieniem gazowego azotu i przechowywano w stanie zamrożonym [4]. Preparat β -karotenu pochodził z firmy Fluka (22040, czystość min. 97%).

Ze względu na znaczącą rolę katalityczną jonów metali przejściowych w reakcjach utleniania, w pracy oznaczano zdolność badanych preparatów do chelatowania jonów żelaza(II). Preparaty (50,5 mg) rozpuszczano w dichlorometanie (10 ml) i łączono (1:600) z etanolemowym roztworem chlorku żelaza(II) o stężeniu 65 μM . Niezwiązaną część żelaza oznaczano spektrofotometrycznie ($\lambda=562$ nm) po reakcji z ferrozyną (5 mM roztwór wodny) [10]. Wyniki przeliczano posługując się krzywą wzorcową przygotowaną z roztworów chlorku żelaza(II) w zakresie stężeń 0–65 μM i wyrażano jako μM związanego Fe/g preparatu.

Zdolność preparatów do dezaktywacji wolnych rodników oznaczano wobec stabilnych rodników DPPH \cdot (1,1-difenylo-2-pikrylohydrazyl) [13] i kationrodników ABTS $^{+\cdot}$ [12]. W pierwszym przypadku roztwory preparatów w chloroformie łączono z chloroformowym roztworem DPPH \cdot . Zawartość rodników oznaczano spektrofotometrycznie ($\lambda=517$ nm) po 30 min inkubacji z badanymi karotenoidami (1, 5, 15 mg%)

wobec odpowiednich próbek ślepych (bez dodatku rodników). Równolegle przygotowywano próbki kontrolne (nie zawierające badanych preparatów). Kationorodniki ABTS^{•+} wytwarzano z syntetycznego substratu (kwas 2,2'-azynobis[3-etylobenzotiazolino-6-sulfonowy]) w reakcji z nadsiarczanem potasu przez 24 godz. bez dostępu światła. Uzyskany roztwór rodników rozcieńczano etanolem do absorbancji 0,7 ($\pm 0,02$) i mieszano z roztworami karotenoidów w dichlorometanie. Równolegle przygotowywano próbki kontrolne (nie zawierające badanych preparatów). Zawartość rodników oznaczano spektrofotometrycznie ($\lambda=734$ nm) wobec próbek ślepych. Czas inkubacji wynosił 6 min, przed pomiarem próbki ponownie mieszano. Preparaty stosowano w ilości 1 i 5 mg%.

W pracy badano również właściwości preparatów karotenoidów (1, 5, 15 mg%) w procesie autooksydacji kwasu linolowego w układzie emulsyjnym, mierząc zawartość nadtlenków kwasu linolowego [9] i produktów ich rozpadu reagujących z kwasem tiobarbiturowym [18]. W celu przygotowania emulsji naważano kwas linolowy oraz Tween 20 i łączono z roztworami karotenoidów w chloroformie. Chloroform odparowywano strumieniem gazowego azotu i po dodaniu 0,05 M buforu fosforanowego (pH 7,0) całość homogenizowano przy 20000 obr./min przez 30 s. Równolegle przygotowywano emulsje do próbek kontrolnych niezawierające dodatku karotenoidów. W celu oznaczenia zdolności karotenoidów do hamowania reakcji tworzenia nadtlenków kwasu linolowego, do emulsji dodawano roztwór hemoglobiny i po 10 min termostatowania w temp. 37°C reakcję utleniania zatrzymywano przez dodatek 0,6% kwasu solnego w etanolu. Zawartość nadtlenków oznaczano spektrofotometrycznie ($\lambda=480$ nm) po reakcji z tiocyjanianem amonu i chlorkiem żelaza(II) wobec próbek ślepych, których nie termostatowano, a roztwór hemoglobiny dodawano po roztworze kwasu solnego w etanolu. W celu określenia właściwości preparatów wobec wtórnych produktów utleniania przygotowane emulsje termostatowano przez 24 h w temp. 37°C w obecności jonów żelaza(II) (próbki ślepe w temp. 6°C). Po tym czasie pobierano próbki, dodawano 0,2% metanolowy roztwór BHT (w celu powstrzymania tworzenia się wtórnych produktów autooksydacji na dalszych etapach doświadczenia) oraz 0,5% roztwór kwasu tiobarbiturowego w 5% kwasie solnym i ogrzewano we wrzącej łaźni wodnej przez 20 min. Po ostudzeniu dodawano chloroform w celu oddzielenia fazy tłuszczowej, wirowano i mierzono absorbancję fazy wodnej ($\lambda = 532$ nm) wobec próbek ślepych.

Ostatnim etapem pracy było oznaczenie zdolności preparatów do hamowania reakcji enzymatycznego utleniania katalizowanego przez lipooksygenazę [17]. Reakcję prowadzono w układzie jednofazowym, pobierając roztwory karotenoidów w dichlorometanie (w przypadku próbek kontrolnych sam dichlorometan) oraz kwas linolowy i mieszając całość z etanolem, a następnie rozcieńczając sześciokrotnie 0,2 M buforem boranowym (pH 9,0). Reakcję rozpoczynano przez dodatek enzymu w silnie schłodzonym buforze boranowym (10000 j/ml) i po 12 min dokonywano pomiaru absorbancji

przy 234 nm wobec próbek ślepych, w których dodatek enzymu zastąpiono buforem boranowym. Badane preparaty stosowano w ilości 1 mg%. Ponadto reakcję enzymatyczną prowadzono także w układzie heterofazowym, przygotowanym przez połączenie Tween 20, roztworów karotenoidów w chloroformie i kwasu linolowego w chloroformie, odparowanie rozpuszczalnika strumieniem gazowego azotu i dokładne wymieszanie całości z buforem boranowym. Reakcję utleniania prowadzono analogicznie do układu jednofazowego. Preparaty karotenoidów zastosowano w ilości 1, 5 i 15 mg%.

Wszystkie analizy wykonano w 3 powtórzeniach, za wyjątkiem badania właściwości przeciwutleniających preparatów w procesie autooksydacji kwasu linolowego, które wykonano w 4 powtórzeniach. Aktywność przeciwutleniającą (A) preparatów liczono z równania:

$$A = (A_k - A_w) / A_k \cdot 100\%,$$

gdzie: A_k – absorbancja próbki kontrolnej, A_w – absorbancja próbki właściwej. Uzyskane wyniki przedstawiono w tabelach w postaci wartości średnich wraz z odchyleniami standardowymi.

Wyniki i ich omówienie

We wstępnej części pracy oznaczono zdolność karotenoidów do wiązania jonów żelaza(II). Uzyskane wyniki wraz ze stosowanymi w pracy oznaczeniami preparatów przedstawiono w tab. 1. Największą zdolność chelatowania wykazał β -karoten (ponad 400 $\mu\text{mol Fe/g}$), karotenoidy pomidora wiązały prawie dwukrotnie mniej jonów żelaza (ponad 200 $\mu\text{mol Fe/g}$), zaś preparat uzyskany z papryki – prawie trzykrotnie mniej (około 150 $\mu\text{mol Fe/g}$).

Preparaty β -karotenu i karotenoidów pomidora charakteryzowały się bardzo podobnymi właściwościami wobec stabilnych rodników DPPH[•] (tab. 2), wykazując aktywność od około 20% (dodatek 1 mg%) do 100% (dodatek 15 mg%), podczas gdy preparat karotenoidów papryki przejawiał 21% aktywności przy największym jego dodatku (15 mg%). Podobne zależności obserwowano w doświadczeniu z kationorodnikami ABTS^{•+} (tab. 2), przy czym dezaktywacja rodników zachodziła znacznie skuteczniej – preparat β -karotenu (PB) i preparat karotenoidów pomidora (PL) przekroczyły 90% aktywności już przy dodatku 5 mg% (w wyniku czego nie prowadzono doświadczenia przy dodatku 15 mg%), zaś preparat karotenoidów papryki „zmiatał” około 40% rodników. Z literatury znany jest fakt większej zdolności likopenu do dezaktywacji kationorodników ABTS^{•+} w porównaniu z β -karotenem [3, 12]. Brak wyizolowania i oczyszczenia likopenu z preparatu karotenoidów owoców pomidora, w których jest on głównym barwnikiem, najprawdopodobniej spowodował mniejszą aktywność tego preparatu w porównaniu z czystym β -karotenem w tym układzie modelowym.

Tabela 1

Stosowane w pracy oznaczenia preparatów i ich zdolność do wiązania jonów żelaza(II).

The abbreviations of the preparation's names applied in the study and their ability to bind Fe(II) ions.

Nazwa preparatu Preparation's name	Stosowane oznaczenie Abbreviation applied	Zdolność wiązania jonów Fe(II) Fe(II) binding ability [μmol Fe/g]
Preparat karotenoidów z owoców pomidora Tomato carotenoids preparation	PL	234,3 ±12,50
Preparat karotenoidów z owoców papryki Paprika carotenoids preparation	PK	155,0 ±11,07
β-Karoten β-Carotene	PB	414,7 ±19,79

Tabela 2

Wpływ wielkości dodatku badanych karotenoidów [mg%] na ich aktywność wobec stabilnych rodników DPPH[•] oraz kationorodników ABTS^{•+}.

Effect of investigated carotenoids' addition [mg%] on their activity towards DPPH[•] stable radicals and ABTS^{•+} radical cations.

Preparat Preparation	Aktywność przeciwutleniająca (DPPH [•]) Antioxidant activity [%]			Aktywność przeciwutleniająca Antioxidant activity (ABTS ^{•+}) [%]	
	1 mg%	5 mg%	15 mg%	1 mg%	5 mg%
PL	18,7 ±1,92	60,3 ±4,21	100,0 ±5,69	24,6 ±1,83	90,9 ±2,74
PK	2,8 ±0,56	12,7 ±3,54	20,9 ±0,68	10,2 ±0,64	41,1 ±1,41
PB	21,6 ±1,64	67,5 ±2,87	100,0 ±5,05	67,8 ±1,63	100,0 ±0,00

W procesie autooksydacji emulsji kwasu linolowego (tab. 3) β-karoten najlepiej zapobiegał powstawaniu nadtlenków, wykazując aktywność od 40% (dodatek 1 mg%) do prawie 100% (dodatek 15 mg%), natomiast preparaty uzyskane z owoców pomidora i papryki okazały się bardzo efektywne dopiero przy dodatku 15 mg% (odpowiednio 86 i 76% aktywności). Może mieć to związek z większą zdolnością β-karotenu do łączenia się z jonami żelaza, które były katalizatorem tej reakcji. Prawdopodobnie właśnie ten fakt obok heterofazowego układu doświadczalnego spowodował, że β-karoten okazał się najlepszym inhibitorem autooksydacji kwasu linolowego w niniejszej pracy, podczas gdy w doświadczeniu prowadzonym w układzie homofazowym, bez obecności jonów żelaza, mniejszą zawartość nadtlenków stwierdzono w próbce z dodatkiem likopenu [3].

Tabela 3

Wpływ wielkości dodatku badanych karotenoidów [mg%] na ich aktywność wobec nadtlenków kwasu linolowego (LOOH) oraz wtórnych produktów utleniania reagujących z kwasem tiobarbiturowym (TBARS).

Effect of investigated carotenoid's addition [mg%] on their activity towards linoleic acid peroxides (LOOH) and thiobarbituric acid-reactive substances (TBARS).

Preparat Preparation	Aktywność przeciwutleniająca Antioxidant activity (LOOH) [%]			Aktywność przeciwutleniająca Antioxidant activity (TBARS) [%]		
	1 mg%	5 mg%	15 mg%	1 mg%	5 mg%	15 mg%
PL	29,5 ± 5,39	36,5 ± 3,81	85,8 ± 5,69	6,6 ± 0,11	8,0 ± 4,52	9,5 ± 2,18
PK	24,5 ± 1,57	33,5 ± 2,37	76,3 ± 3,98	2,8 ± 0,01	-16,6 ± 3,93	-31,0 ± 6,05
PB	39,5 ± 2,78	80,3 ± 2,88	99,0 ± 1,19	7,7 ± 0,10	17,5 ± 4,43	30,6 ± 6,39

Pomiar wtórnych produktów utleniania reagujących z kwasem tiobarbiturowym (tab. 3) dał wyraźnie odmienne rezultaty – jedynie karoten zastosowany w ilości 15 mg% przekroczył 20% aktywności, zaś preparat karotenoidów papryki wykazał tendencje prooksydacyjne przy większych dodatkach. Jest to najprawdopodobniej spowodowane znaczną wybiórczością tej reakcji [6], bowiem badane preparaty mogą wykazywać słabszy efekt wobec specyficznej grupy wtórnych produktów utleniania oznaczanej z kwasem tiobarbiturowym (głównie dwualdehyd malonowy) lub nawet promować tworzenie się takich substancji, hamując powstawanie innych, co może prowadzić do błędnej interpretacji działania badanych przeciwutleniaczy. Nie można jednak również wykluczyć prooksydacyjnego działania tego preparatu, gdyż takie tendencje w niektórych układach modelowych, przy wyższych stężeniach karotenoidów, są opisane w literaturze [11, 14].

Największe różnice w aktywności β -karotenu i pozostałych preparatów obserwowano w reakcji enzymatycznego utleniania kwasu linolowego (tab. 4). W układzie homofazowym, przy dodatku 1 mg%, β -karoten wykazał dwukrotnie większą aktywność (35%) od pozostałych karotenoidów (14-18%). Zmiana układu na heterofazowy (emulsyjny) spowodowała znaczne polepszenie działania preparatów (odpowiednio 72% i około 43% aktywności przy identycznym dodatku). Efekt ten mógł być spowodowany większym skoncentrowaniem przeciwutleniaczy wraz z substratem reakcji w fazie lipidowej, co w zastosowanych warunkach mogło dodatkowo wpłynąć na efektywność karotenoidów. Istotne zmiany aktywności przeciwutleniaczy przy zmianie środowiska reakcji z jednofazowego na heterofazowy są potwierdzone przez dane literaturowe [7]. Zwiększenie dodatku preparatów w układzie emulsyjnym spowodowało wzrost aktywności karotenu do 100% przy zawartości 15 mg%, podczas gdy aktywności pozostałych preparatów nie zmieniły się w sposób znaczący.

Tabela 4

Wpływ układu reakcji i wielkości dodatku badanych karotenoidów [mg%] na ich aktywność w procesie utleniania enzymatycznego katalizowanego przez lipooksygenazę.

Effect of reaction system and investigated carotenoids' addition [mg%] on their activity in lipoxygenase-catalysed enzymatic oxidation process.

Preparat Preparation	Aktywność przeciwutleniająca (układ jednofazowy) Antioxidant activity (single phase system) [%]	Aktywność przeciwutleniająca (układ emulsyjny) Antioxidant activity (emulsion system) [%]		
	1 mg%	1 mg%	5 mg%	15 mg%
PL	18,3 ±3,30	42,6 ±5,90	44,7 ±8,63	48,5 ±6,65
PK	14,2 ±5,11	42,5 ±7,89	31,3 ±6,03	41,6 ±3,36
PB	34,3 ±1,16	72,1 ±4,66	92,5 ±2,16	100,0 ±0,00

Wnioski

1. Preparat karotenoidów uzyskany z owoców pomidora wykazał w większości doświadczeń lepsze właściwości przeciwutleniające od preparatu uzyskanego z owoców papryki, lecz ustępował aktywnością syntetycznemu β -karotenowi.
2. Większa efektywność β -karotenu w procesie autooksydacji kwasu linolowego w odniesieniu do pozostałych karotenoidów może być po części spowodowana lepszą zdolnością tego preparatu do chelatowania jonów żelaza(II).
3. Badane karotenoidy były wyraźnie lepszymi inhibitorami aktywności lipooksygenazy przy zastosowaniu we frakcji lipidowej modelowego układu heterofazowego w porównaniu z układem homofazowym.

Literatura

- [1] Ahmad, I., Alaiz, M., Zamora, R., Hidalgo, F.I.: Effect of oxidized lipid/amino acid reaction products on the antioxidative activity of common antioxidants. *J. Agric. Food Chem.*, 1998, **46**, 3768-3771.
- [2] Alaiz, M., Zamora, R., Hidalgo, F.J.: Addition of oxidized lipid/amino acid reaction products delays the peroxidation initiated in a soybean oil. *J. Agric. Food Chem.*, 1995, **43**, 2968-2701.
- [3] Anguelova, T., Warthesen, J.: Degradation of lycopene, α -carotene, and β -carotene during lipid peroxidation. *Food Chem. Toxicol.*, 2000, **65**, 71-75.
- [4] Davies, B.H.: Analysis of carotenoid pigments. w: Goodwin, T.W.: Chemistry and biochemistry of plant pigments. Academic Press London 1965.
- [5] Edge, R., McGarvey, D.J., Truscott, T.G.: The carotenoids as antioxidants – a review. *J. Photochem. Photobiol. B.*, 1997, **41**, 189-200.
- [6] Guzman-Chozas, M., Vicario, I.M., Guillen-Sans, R.: Spectrophotometric profiles of off-flavor aldehydes by using their reactions with 2-thiobarbituric acid. *J. Agric. Food Chem.*, 1997, **45**, 2452-2457.

- [7] Huang, S.-W., Hopia, A., Schwarz, K., Frankel, E.N., German, J.B.: Antioxidant activity of α -tocopherol and Trolox in different lipid substrates: bulk oils vs oil-in-water emulsions. *J. Agric. Food Chem.*, 1996, **44**, 444-452.
- [8] Kitts, D.D.: An evaluation of the multiple effects of the antioxidant vitamins. *Trends Food Sci. Technol.*, 1997, **8**, 198-203.
- [9] Kuo, J.-M., Yeh, D.-B., Pan, B.S.: Rapid photometric assay evaluating antioxidative activity in edible plant material. *J. Agric. Food Chem.*, 1999, **47**, 3206-3209.
- [10] Lai, L.-S., Chou, S.-T., Chao, W.-W.: Studies on the antioxidative activities of hsian-tsoa (*Mesona procumbens* Hemsl) leaf gum. *J. Agric. Food Chem.*, 2001, **49**, 963-968
- [11] Polyakov, N.E., Leshina, T.V., Konovalova, T.A., Kispert, L.D.: Carotenoids as scavengers of free radicals in a Fenton reaction: antioxidants or prooxidants? *Free Rad. Biol. Med.*, 2001, **31**, 398-404.
- [12] Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., Rice-Evans, C.: Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Rad. Biol. Med.*, 1999, **26**, 1231-1237.
- [13] Saint-Cricq de Gaulejac, N., Provost, C., Viras, N.: Comparative study of polyphenol scavenging activities assessed by different methods. *J. Agric. Food Chem.*, 1999, **47**, 425-431.
- [14] Subagio, A., Morita, N.: Instability of carotenoids is a reason for their promotion on lipid oxidation. *Food Res. Int.*, 2001, **34**, 183-188.
- [15] Szukalska E.: Procesy oksydacyjne i rola antyoksydantów w technologii tłuszczów. Antyoksydanty w żywności – aspekty technologiczne i zdrowotne. Materiały II Konferencji Naukowej „Żywność a zdrowie”, Łódź, 25.06.1999, s. 42-53.
- [16] Vieira, T.M.F.S., Regitano-d'Arce, M.A.B.: Ultraviolet spectrophotometric evaluation of corn oil oxidative stability during microwave heating and oven test. *J. Agric. Food Chem.*, 1999, **47**, 2203-2206
- [17] Wołosiak, R., Klepacka, M.: Antioxidative properties of albumins in enzymatically catalyzed model systems. *Electr. J. Pol. Agric. Univ.*, 2002, vol. **5**, issue 1.
- [18] Yen, G.C., Chen, H.Y., Lee, C.-E.: Measurement of antioxidative activity in metal ion-induced lipid peroxidation systems. *J. Sci. Food Agric.*, 1999, **79**, 1213-1217.

A COMPARISON OF ANTIOXIDATIVE PROPERTIES OF CAROTENOID PREPARATIONS DERIVED FROM TOMATO AND PAPRIKA

S u m m a r y

Antioxidative activity of carotenoid preparations obtained from tomato, paprika and of β -carotene against free radicals, in the linoleic acid autoxidation process and in lipoxygenase-catalysed enzymatic reaction were investigated in the study. Better properties of β -carotene comparing to other preparations were stated. β -Carotene applied in the 15 mg% concentration exhibited 100% activity against free radicals and completely inhibited the linoleic acid autoxidation process and enzymatic oxidation catalysed by lipoxygenase. Tomato carotenoids preparation showed not much worse properties towards free radicals and in the autoxidation process, whereas paprika carotenoids preparation had distinctly lower activities. All the investigated carotenoids inhibited the formation of the secondary oxidation products the weakest (tomato preparation up to 10% and β -carotene up to 30%) and paprika preparation exhibited prooxidative tendencies in higher concentrations. The change of the enzymatic reaction system from continuous to emulsified caused a distinct improvement of the preparation's activity.

Key words: carotenoids, tomato, paprika, β -carotene, antioxidant, free radicals, autoxidation, lipoxygenase. ☒

ANNA ŻBIKOWSKA, KRZYSZTOF KRYGIER

WPLYW ZAWARTOŚCI IZOMERÓW TRANS W TŁUSZCZACH NA JAKOŚĆ CIAST WYSOKOTŁUSZCZOWYCH

Streszczenie

Celem pracy było sprawdzenie w jakim stopniu możliwe jest ograniczenie zawartości izomerów trans (TFA) w tłuszczach przeznaczonych do pieczenia, bez pogorszenia jakości ciast biszkoptowo-tłuszczowych i francuskich. Oceniono jakość sześciu tłuszczów różniących się składem kwasowym, a w szczególności zawartością TFA (od 0,1 do 42,3%). Przeprowadzono ocenę właściwości surowych i upieczonych ciast, otrzymanych przy udziale badanych tłuszczów.

Stwierdzono, że w przypadku ciast biszkoptowo-tłuszczowych obniżenie zawartości TFA w tłuszczach z poziomu 42,3% powodowało pogorszenie jakości wyrobów gotowych (objętość, porowatość miękiszu, walory sensoryczne).

W przypadku ciast francuskich możliwe okazało się obniżenie zawartości TFA w tłuszczach z poziomu 42 do 27% bez pogorszenia ich tekstury i ogólnej jakości sensorycznej.

Słowa kluczowe: izomery trans nienasyconych kwasów tłuszczowych, ciasta biszkoptowo-tłuszczowe, ciasta francuskie.

Wprowadzenie

Istotną cechą jakościową tłuszczów spożywczych jest zawartość w nich kwasów tłuszczowych, które stanowią około 90% masy tłuszczu [6]. Stosowane w naszym kraju tłuszcze do handlowych produktów cukierniczych, charakteryzują się znacznym udziałem izomerów trans kwasów tłuszczowych, od 0,1 do 72,5% [1, 3, 5]. Zdaniem wielu autorów izomery te są szkodliwe i powinny być eliminowane z żywności [7, 9, 10, 24]. Z kolei Rutkowska [23] wykazała wpływ składu kwasów tłuszczowych różnych margaryn na jakość wyrobów ciastkarskich, stąd można przypuszczać, że także w naszych badaniach wpływ ten będzie istotny.

Celem podjętych badań było sprawdzenie na ile możliwe jest ograniczenie zawartości izomerów trans w tłuszczach, o zróżnicowanym składzie kwasowym, przeznac-

czonych do pieczenia, bez pogorszenia jakości ciast wysokotłuszczowych.

Do badań wybrano ciasta biszkoptowo-tłuszczowe i francuskie.

Materiał i metody badań

Praca swym zakresem obejmowała: ocenę właściwości chemicznych, fizycznych i sensorycznych sześciu tłuszczów, różniących się składem kwasowym, szczególnie zawartością izomerów trans (od 0,1 do 42,3%), ocenę jakości glutenu mąki pszennej oraz określenie efektywności wybranych tłuszczów do wypieku ciast wysokotłuszczowych na podstawie badań właściwości fizycznych surowych ciast i gotowych wyrobów.

W badaniach użyto następujące tłuszcze:

- A – tłuszcz smaźalniczy ($tt^* 32,0^{\circ}\text{C}$) – wyprodukowany przez Unilever Polska S.A. Oddział Żywności i Napojów w Katowicach,
- B – smalec ($tt^* 34,1^{\circ}\text{C}$) – wyprodukowany przez Sokołowskie Zakłady Mięsne z Sokołowa Podlaskiego,
- C – tłuszcz smaźalniczy ($tt^* 42,5^{\circ}\text{C}$) – wyprodukowany przez Zakłady Tłuszczowe Kruszwica S.A.,

oraz tłuszcze wyprodukowane i otrzymane z firmy Loders Croklaan z Holandii:

- D – uwodorniony tłuszcz palmowy ($tt^* 33,1^{\circ}\text{C}$),
- E – uwodorniony tłuszcz palmowy ($tt^* 35,4^{\circ}\text{C}$),
- F – uwodorniony olej sojowy ($tt^* 30,0^{\circ}\text{C}$).

Tłuszcze dobrano tak, aby różniły się zawartością izomerów trans kwasów tłuszczowych (TFA), co przedstawiono w tab. 1.

Ponadto zastosowano mąkę pszenną „Szymanowską” typu 480 (Młyn Szymanów), świeżo ubitą masę jajową (ferma drobiu w Wiśniewie k/Mławy), cukier puder (cukrownia ŚRODA S.A. w Środzie Wielkopolskiej) i sól (Inowrocławskie Kopalnie Soli SOLINO S.A. z Inowrocławia). Do wytworzenia ciastek francuskich zastosowano zalecaną do tego typu wyrobów mąkę wysokoglutenuową [2, 11], o liczbie glutenowej 46.

Ciasta biszkoptowo-tłuszczowe wykonano metodą „na zimno”, zgodnie z recepturą babki biszkoptowo-tłuszczowej [4], przy zastosowaniu proporcji tłuszczu, cukru, jaj i mąki, jak 1:1:1:1. Nie stosowano dodatku chemicznych środków spulchniających celem wyeliminowania ich wpływu na jakość ciasta. Ciasta francuskie sporządzano według metody podanej przez Ambroziaka [22]. Wykonano po 6 powtórzeń doświadczenia technologicznego.

W dalszej części poddano badaniom otrzymane ciasta.

* temperatura topnienia

Tabela 1

Charakterystyka chemiczna badanych tłuszczów.
Chemical characteristics of fats under investigation.

Tłuszcze Fats	Sumaryczny udział izomerów trans Total trans isomers [%]	Udział nasyconych kwasów tłuszczowych Total SFA [%]	Udział monoenowych kwasów tłuszczowych Total MUFA [%]	Udział polienowych kwasów tłuszczowych Total PUFA [%]	Liczba kwasowa (LK) Acid value [mg KOH/g]	Liczba nadtlenkowa (LOO) Peroxide value [milirownoważnik O ₂ /kg]
A	0,5	42,2	38,3	19,5	0,27	0,19
B	0,1	38,8	50,3	10,9	0,55	0,70
C	38,9	30,8	68,3	0,9	0,22	0,28
D	16,0	42,2	50,1	7,7	0,18	0,23
E	27,1	40,3	55,2	4,5	0,20	0,28
F	42,3	18,7	79,1	2,2	0,14	0,61

Badania tłuszczów wykonywano wg norm PN-ISO, w tym: skład kwasów tłuszczowych w aparacie Hewlett Packard 6890 [18, 19], temperaturę topnienia [12], liczbę kwasową [16] oraz liczbę nadtlenkową [17].

Ocenę sensoryczną tłuszczów prowadzono zgodnie z zaleceniami norm PN [13, 20] przez przeszkolony 8-osobowy zespół. Dopuszczono stosowanie ocen połówkowych.

W mące pszennej określano ilość i jakość glutenu według powszechnie stosowanych metod [14, 21].

Analizę cech gotowych wyrobów przeprowadzono po 24 godz. od wypieku, zgodnie z zaleceniami Jakubczyka i Habera [21].

W ciastach biszkoptowo-tłuszczowych oznaczano masę objętościową ciasta surowego i wypieczonego, objętość gotowych wyrobów, porowatość miękiszu oraz ocenę sensoryczną wg BN [2].

W ciastach francuskich oznaczano: objętość, przeprowadzono instrumentalny pomiar tekstury i oceniano je sensorycznie wg PN [15].

W części statystycznej przeprowadzono analizę regresji i jednoczynnikową analizę wariancji ($p < 0,05$), za pomocą programu Statgraphics 4.0.

Wyniki i dyskusja

Wszystkie tłuszcze były w okresie przydatności do spożycia i spełniały wymagania norm w zakresie liczby kwasowej i nadtlenkowej (tab. 1). Badane tłuszcze uzyskały noty co najmniej dobre w sensorycznej ocenie końcowej, przy założeniu, że ocena dobra obejmowała wartości od 3,5 do 4,5 (tab. 2).

Tabela 2

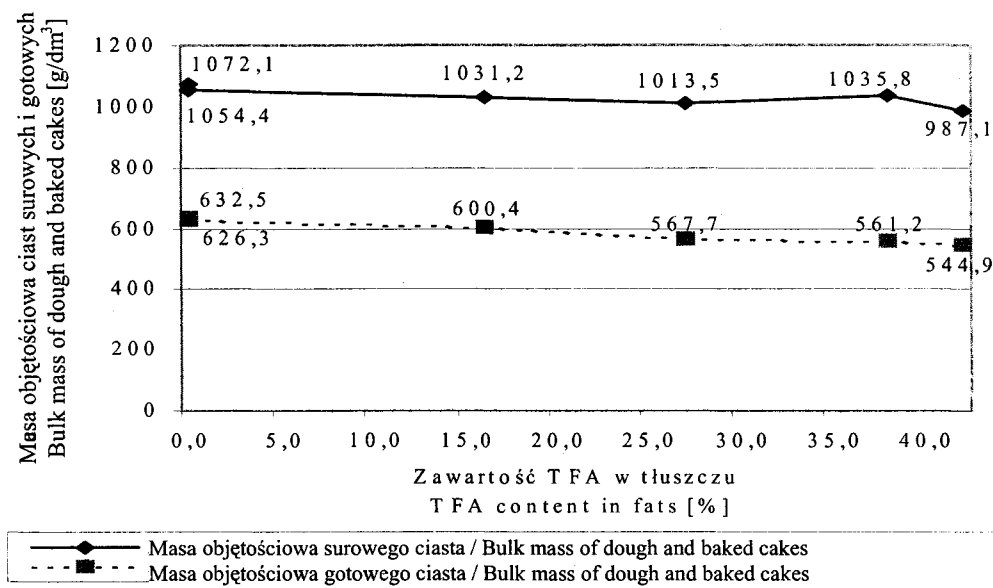
Ocena sensoryczna badanych tłuszczów [pkt].
Sensory evaluation of fats under investigation [rated by points].

Tłuszcz Fats	Smakowitość Savories	Barwa Color	Konsystencja Consistence	Struktura Structure of grease	Ocena ogólna Total rate of the evaluation
A	4,0	4,3	4,1	-	4,1
B	3,9	4,2	3,8	3,3	3,9
C	3,7	3,9	3,4	-	3,7
D	4,1	4,2	3,8	-	4,1
E	4,3	4,4	4,0	-	4,3
F	5,0	4,9	4,3	-	4,9

Ciasta biszkoptowo-tłuszczowe

Na podstawie masy objętościowej surowego ciasta i wypieczonego produktu można wnioskować o właściwościach użytych tłuszczów i o prawidłowości przebiegu procesu wytwarzania ciasta. Im mniejsza masa objętościowa tym lepsza jakość ciast.

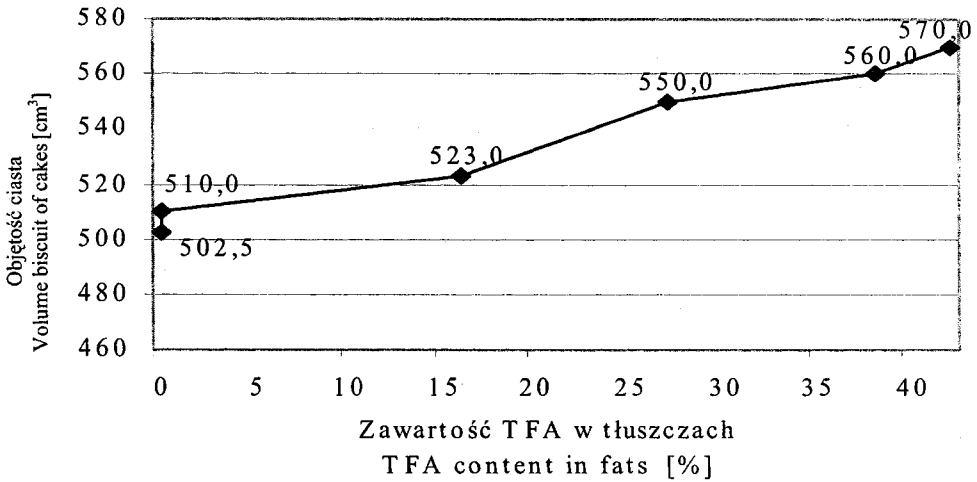
Ze wzrostem zawartości izomerów trans w tłuszczach zastosowanych do otrzymywania ciast, wzrastała ich jakość (rys. 1). Przeprowadzona analiza regresji wykazała korzystny wpływ izomerów trans nienasyconych kwasów tłuszczowych na niską masę objętościową surowego ciasta (współczynnik korelacji $r = -0,83$). Obliczone współczynniki korelacji wskazały również na pozytywne oddziaływanie izomerów trans na masę objętościową gotowego wyrobu ($r = -0,88$), na objętość ($r = 0,99$), porowatość miękiszu ($r = 0,97$) i ogólną ocenę sensoryczną.



Rys. 1. Zależności pomiędzy zawartością izomerów trans kwasów tłuszczowych (TFA) w badanych tłuszczach a masą objętością ciast surowych i gotowych biszkoptowo-tłuszczowych.

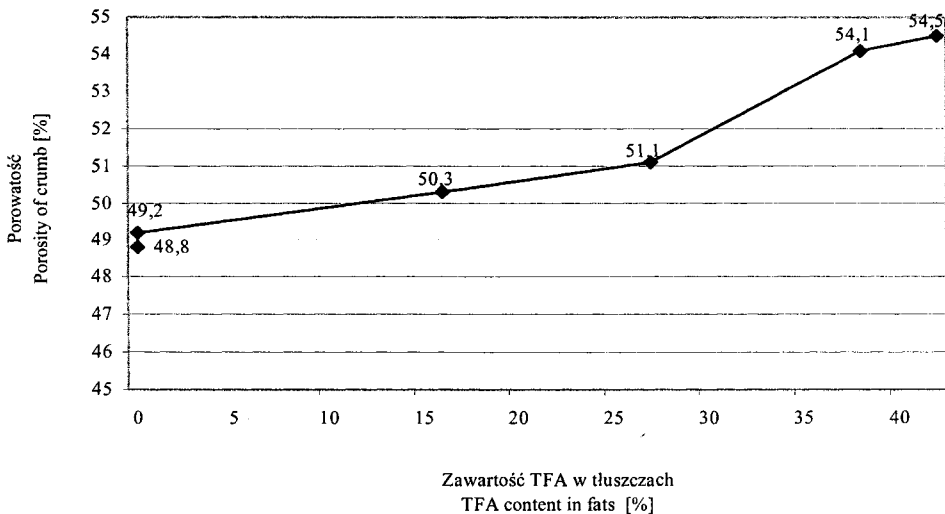
Fig. 1. The dependence between the trans isomer content in fats investigated and the bulk mass of dough and biscuit cakes.

Pozytywne zależności pomiędzy zawartością izomerów trans w tłuszczach a objętością ciast otrzymanych z ich udziałem przedstawiono na rys. 2. Na podstawie wyników zamieszczonych na rys. 3 można przypuszczać, że wraz ze wzrostem zawartości TFA w tłuszczach wzrasta porowatość miękiszu ciasta. Obserwacje te potwierdzają wcześniejsze badania Krygiera i Żbikowskiej [8], w których zaobserwowano wyraźny, dodatni wpływ zawartości TFA na jakość miękiszu i jego porowatość.



Rys. 2. Zależności pomiędzy zawartością TFA w badanych tłuszczach a objętością ciast biszkoptowo – tłuszczowych.

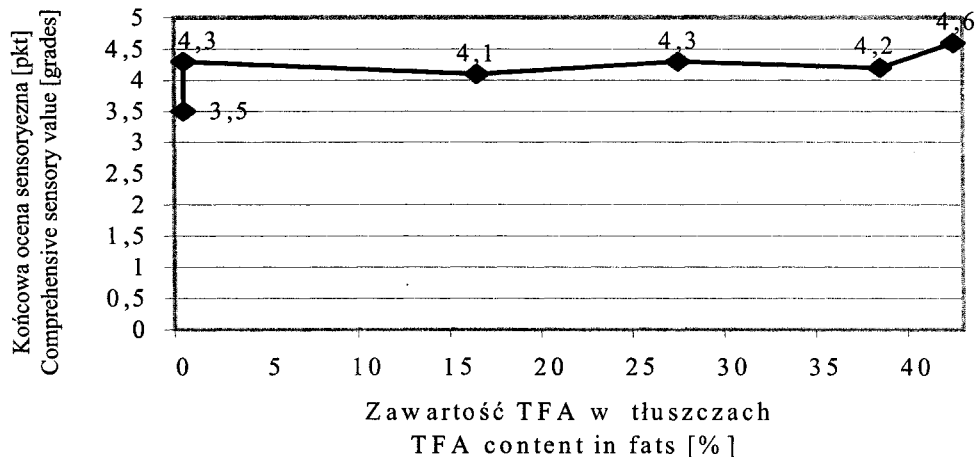
Fig. 2. The dependence between the TFA content in fats investigated and the volume of biscuit cakes.



Rys. 3. Zależności pomiędzy zawartością TFA w badanych tłuszczach a porowatością miększu ciast biszkoptowo-tłuszczowych.

Fig. 3. The dependence between the TFA content in fats investigated and the porosity of crumb of biscuit cakes.

Niższe noty ogólnej oceny sensorycznej uzyskały ciasta otrzymane z tłuszczów o mniejszej zawartości izomerów trans, natomiast najwyżej oceniono ciasto z tłuszczem o największej zawartości TFA (rys. 4).



Rys. 4. Zależności pomiędzy zawartością TFA w badanych tłuszczach a ogólną oceną sensoryczną ciast biszkoptowo-tłuszczowych.

Fig. 4. The dependence between the TFA content in fats investigated and the general sensory value of biscuit cakes.

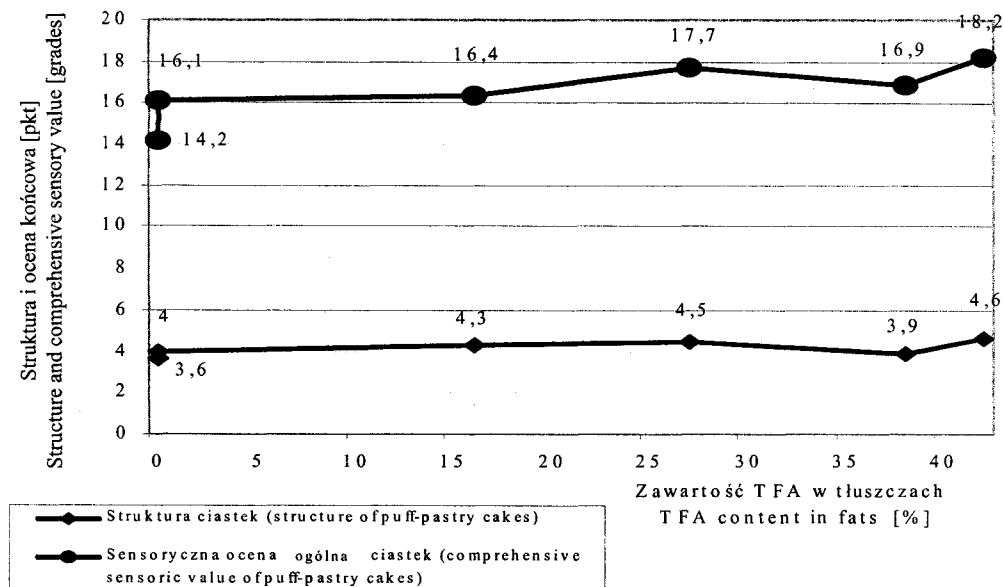
Ciasta francuskie

W przypadku ciast francuskich, w odczuciu konsumentów najważniejsze są: walory sensoryczne, objętość i tekstura.

Struktura tych ciast jest tak zbudowana, że pod wpływem działania sił naciskających wyroby te rozpadają się na drobne fragmenty. Właściwość ta jest wynikiem odpowiednio dobranych składników ciasta i postępowania technologicznego, mającego na celu pozbawienie wyrobu ciągliwości struktury. Największą delikatność i kruchość uzyskuje się przy bardzo dużym udziale tłuszczu w stosunku do mąki oraz małej zawartości cukru [2].

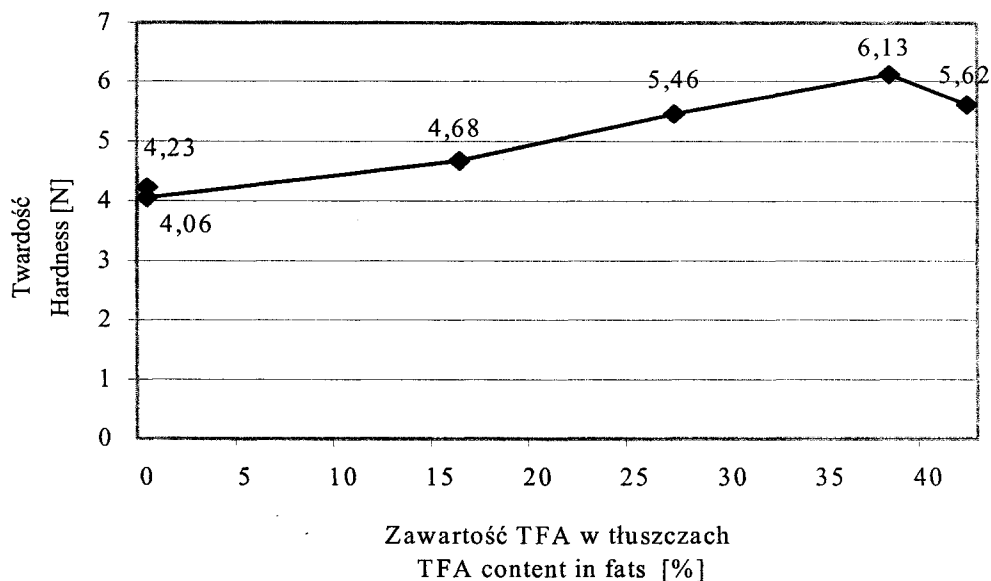
Statystycznie stwierdzono dodatnią zależność pomiędzy zawartością izomerów trans nienasyconych kwasów tłuszczowych a objętością ciastek ($r = 0,88$), twardością ($r = 0,96$), wyglądem zewnętrznym wyrobu ($r = 0,71$), strukturą i teksturą ($r = 0,60$) oraz ogólną oceną sensoryczną ($r = 0,83$).

Na rys. 5. przedstawiono zależności pomiędzy poziomem izomerów trans w zastosowanych tłuszczach a oceną struktury i końcową oceną ciastek. Na tej podstawie można przypuszczać, że jakość ciastek rośnie ze wzrostem zawartości izomerów trans w zastosowanych tłuszczach (do około 27%).



Rys. 5. Zależności pomiędzy zawartością TFA w badanych tłuszczach a strukturą i oceną ogólną ciastek francuskich.

Fig. 5. The dependence between the TFA content in fats under investigations and the structure and the general sensory assessment of puff-pastry cakes.



Rys. 6. Zależności pomiędzy zawartością izomerów trans kwasów tłuszczowych (TFA) a twardością ciastek francuskich.

Fig. 6. The dependence between the TFA content in fats investigated and the hardness of puff-pastry cakes.

Największą twardością charakteryzowały się ciastka z tłuszczem zawierającym 38,9% TFA (rys. 6.), co zostało potwierdzone w ocenie sensorycznej. Tak więc najkorzystniejszą strukturą charakteryzowały się ciasta, których tłuszcze zawierały 27,1 i 42,3% TFA.

Wnioski

1. Zmniejszenie zawartości izomerów trans w tłuszczach zastosowanych do otrzymania ciast biszkoptowo-tłuszczowych, z poziomu 42,3%, wiązało się z pogorszeniem jakości tych ciast. Powodowało spadek objętości i wzrost masy objętościowej gotowego wyrobu. Poza tym, obserwowano spadek porowatości mięksiszu i pogorszenie walorów sensorycznych ciast.
2. W przypadku ciast francuskich możliwe jest obniżenie zawartości izomerów trans z poziomu 42% do 27% bez pogorszenia ich jakości. Wyroby otrzymane przy udziale tłuszczów o takich zawartościach izomerów trans uzyskały najwyższe noty oceny sensorycznej i najwyżej też oceniono ich teksturę. Istotnie statystycznie różnice występowały tylko w przypadku objętości na korzyść ciast z tłuszczem o 42% zawartości TFA.

Literatura

- [1] Balas J.: Kwasy tłuszczowe w rynkowych produktach spożywczych Cz. I. Bezpieczna Żywność, 2001, **1**, 20-21.
- [2] BN-85/8089-07. Wyroby ciastkarskie z ciasta biszkoptowo-tłuszczowego. Babki biszkoptowo-tłuszczowe. Wymagania wspólne.
- [3] Brzozowska E.: Technologia ciast o strukturze gąbczastej (rozdz. 20), Technologia ciast o strukturze kruchej (rozdz. 2). W: Podstawy technologii gastronomicznej, praca zbiorowa pod red. Zalewskiego S. WNT, Warszawa 1997, s. 259-273, 273-288.
- [4] Daniewski M., Mielniczuk E., Jacórzyński B., Pawlicka M., Balas J.: Skład kwasów tłuszczowych, w szczególności izomerów trans nienasyconych kwasów tłuszczowych, w produktach spożywczych. Żyw. Człow. Metab., IŻŻ, Warszawa 1998, **2**, 133.
- [5] Dojutrek Cz., Pietrzyk A.: Ciastkarstwo. WSiP, Warszawa 1991, s. 30, 73-77.
- [6] Erp-Baart M.A., Couet C., Cuadrado C., Kafatos A., Stanley J., Poppel G.: Trans fatty acids in bakery products from 14 European countries: the transfair study. J. Food Comp. Anal., 1998, **11**, 161-169.
- [7] Gawęcki J. (red.): Prawda o tłuszczach. Instytut Danone – Fundacja Promocji Zdrowego Żywienia, Warszawa 1997, s. 27-39.
- [8] Krygier K., Żbikowska A.: Wpływ tłuszczu na wybrane cechy ciasta biszkoptowo-tłuszczowego. Żywność. Nauka. Technologia. Jakość, 2002, **3** (32), 47-57.
- [9] Parcerisa J., Codony R., Boatella J., Rafecas M.: Fatty acids including trans content of commercial bakery products manufactured in Spain. J. Agric. Food Chem., 1999, **47**, 2040.
- [10] Pedersen J. I.: More on trans fatty acids. Br. J. Nutr., 2001, **85**, 249-250.
- [11] Pisarek S.: Ciasto francuskie. Przegl. Piek. Cuk., 2001, **10**, 48-51.
- [12] PN-ISO 6321:1998. Oleje i tłuszcze roślinne oraz zwierzęce. Oznaczanie punktu topnienia w kapilarze otwartej (punkt płynięcia).

- [13] PN-90/A-85802. Tłuszcze zwierzęce jadalne topione.
- [14] PN-91/A-74022. Przetwory zbożowe. Mąka pszenna.
- [15] PN-A-74252. Wyroby i półprodukty ciastkarskie. Metody badań.
- [16] PN-ISO 660:1996. Oleje i tłuszcze roślinne oraz zwierzęce. Oznaczanie liczby kwasowej i kwasowości.
- [17] PN-ISO 3960:1996. Oleje i tłuszcze roślinne oraz zwierzęce. Oznaczanie liczby nadtlenkowej.
- [18] PN-ISO 5509:2000. Oleje i tłuszcze roślinne oraz zwierzęce. Przygotowanie estrów metylowych kwasów tłuszczowych.
- [19] PN-EN ISO 5508:2000. Oleje i tłuszcze roślinne oraz zwierzęce – Analiza estrów metylowych kwasów tłuszczowych metodą chromatografii gazowej.
- [20] PN-A-86935:1996. Ocena sensoryczna smakowości metodą punktową rafinowanych olejów i tłuszczów.
- [21] Praca zbiorowa, (red. Jakubczyk T., Haber T.): Analiza zbóż i przetworów zbożowych. Wyd. SGGW, Warszawa 1983, s.101-103.
- [22] Praca zbiorowa, (red. Z. Ambroziak): Ciastkarstwo także dla piekarzy. Receptury, normy, porady i przepisy prawne. Wydawnictwo Spółdzielcze, Warszawa 1994, s. 25-27, 33, 45.
- [23] Rutkowska J.: The relationship between fatty acids content, solid fat content of fats, and some factors of quality of sandy cakes. „Developments in the Italian PhD Research in Food Science and Technology”, Catania, Italy 2001, pp. 158-162.
- [24] Verschuren P.M., Zevenbergen J.L.: Safety evaluation of hydrogenated oils. Food Chem. Toxicol., 1990, 28 (11), 755-757.

THE INFLUENCE OF TRANS ISOMERS ON THE QUALITY OF CAKES

Summary

The objective of this work was to show and verify to what extent it could be possible to reduce 'trans' isomers (TFA) in fats used in baking biscuits and puff-pastry cakes, and not to deteriorate their quality. The quality of six (6) fats was evaluated. The fats investigated differed in their composition of acids, in particular in their TFA amount (ranging from 0,1% to 42,3%). There were assessed properties of dough and cakes baked with the use of those 6 fat types. With regard to biscuit cakes, it was stated that when the TFA amount in baking fats was reduced from a level of 42% down to a lower level, the quality of cakes became worse (their volume, porosity of crumb, and sensory values were deteriorated). As for the puff-pastry cakes, no deterioration of their texture and sensory quality was found that could be attributed to the reduction of the TFA content in acids from a level of 42% to a level of 27%.

Key words: trans isomers, biscuit cake, and puff-pastry cake. ☒

CONTENTS

MARIA WRONKOWSKA Report from the 7th All-Polish Symposium of Young Academic Staff of the Polish Food Technologists' Society (PTTŻ)	7
ANETA ARCISZEWSKA, ANETA CEGIELKA Effect of transglutaminase level, enzyme acting time and comminution method on properties of chicken batters with decreased amount of sodium chloride	9
ANNA FABISIAK, DOROTA WITROWA-RAJCHERT, JOANNA GLUSZKO The effect of temperature on some selected properties of convective-dried and freeze-dried apples	19
ILONA GALAŻKA, ROBERT KLEWICKI, KATARZYNA ŚLIŻEWSKA Growth and acidifying activity of bacterial strains of <i>Lactobacillus</i> in the medium containing oligosaccharides and oligopolyols of different degree of polimerysation.....	28
ANETA JAROSŁAWSKA, JAN OSZMIĄŃSKI The effect of polyphenols extracted from skullcap and hawthorn on the oxidation of some selected compounds of a shortcake during its baking	38
KATARZYNA JUREK, AGNIESZKA PETRÓW The effect of malt substitution by maize products on fan production in laboratory worts	49
STANISŁAW KALISZ, MARTA MITEK The content of components showing antioxidant properties in juices and drinks made of color fruits	61
MAGDALENA KOPERA, MARTA MITEK Chemical characteristics of some selected cultivars of asian pear <i>/Pyrus pyrifolia/</i>	68
JAROSŁAW KOWALIK, ANNA TARCZYŃSKA, STEFAN ZIAJKA The application of microbial risk assessment in food production and food trade.....	76
JOLANTA KOWALSKA The influence of coating on physical properties of agglomerated powdered cocoa drink.....	86
URSZULA KRUPA, MARIA SORAL-ŚMIETANA Bean seeds – a source of nutritious and non-nutritious macro-components	98

EWA MAJEWSKA Validation of the titration method applied to determine the aspartame content using sodium methyate	112
MAGDALENA MICHALCZYK, ANNA LESZCZYŃSKA-FIK <i>Listeria monocytogenes</i> in „gravad” rainbow trout (<i>Oncorhynchus mykiss</i>).....	122
ANNA MIKULAJOVÁ, MÁRIA TAKÁCSOVÁ, KITTI NÉMETH, NATÁLIA RAŠOVÁ, SILVIA VOJTEKOVÁ Antioxidant activity of wheat bran extract in rapeseed oil	128
KITTI NÉMETH, MÁRIA TAKÁCSOVÁ, MARIUSZ K. PISKUŁA Flavonoid metabolism in human.....	134
AGNIESZKA PAULO, MAREK CIERACH Storage stability of scalded sausages with di-starch phosphate (skronet) added	139
BARTOSZ SOŁOWIEJ, JACEK PIELECKI, DOMINIK SZWAJGIER The prediction of results to be obtained while simultaneously producing the inulinase and invertase by <i>Aspergillus niger</i> and <i>Kluyveromyces marxianus</i> , with application of a neural networks technique.....	147
IWONA ŚCIBISZ, MARTA MITEK, JOANNA MALEWSKA Antioxidant activity of highbush blueberry (<i>Vaccinium corymbosum L.</i>).....	159
ANNA TARCZYŃSKA, STEFAN ZIAJKA, JAROSŁAW KOWALIK Statistical process control in the HACCP system for the dairy industry	167
INGRID WACHOWICZ, DANUTA KOŁOŻYN-KRAJEWSKA The effect of salt and brine curing on the microbiological quality of chicken meat.....	179
JOANNA WILCZEWSKA, JAN KŁOBUKOWSKI, JERZY SZPENDOWSKI The influence of coagulation process on bioavailability of calcium and phosphorus from permeate obtained during ultrafiltration of tvorog.....	190
RAFAŁ WOŁOSIAK A comparison of antioxidative properties of carotenoid preparations derived from tomato and paprika	199
ANNA ŻBIKOWSKA, KRZYSZTOF KRYGIER The influence of trans isomers on the quality of cakes.....	207

FOOD

The Scientific Organ of Polish Food Technologists' Society (PTTŻ) – quarterly

No 2 (35) Suppl.

Kraków 2002

Vol. 9

Only reviewed papers are published

Covered by: AGRO-LIBREX and Chemical Abstracts Service and IFIS

ISSN 1425-6959

Wydanie czasopisma dofinansowane jest ze składek członków wspierających Polskiego Towarzystwa Technologów Żywności: **Akwawit** Leszno; **Bielmar** Bielsko-Biała, **Celiko SA** Poznań; **Frito-Lay Poland Sp. z o.o.** Grodzisk Mazowiecki; **Hortimex Sp. z o.o.** Konin; **Polfarmex SA** Kutno; **Polsnack Sp. z o.o.** Nysa; **Pozmeat SA** Poznań; **Raisio Polska Foods Sp. z o.o.** Karczew; **Regis Sp. z o.o.** Wieliczka; **PHU SIC** Gościnnó, **Sławski Zakład Przetwórstwa Mięsa i Drobiu s.c.** „**BALCERZAK I SPÓŁKA**”; **Spółdzielnia Produkcji Piekarskiej i Ciastkarskiej** Kraków; **Tchibo** Warszawa; **Technex GmbH** Szczecin; **Zakłady Przemysłu Tłuszczowego** Warszawa

Warunki prenumeraty

Szanowni Państwo,

uprzejmie informujemy, że przyjmujemy zamówienia na prenumeratę naszego kwartalnika, zarówno od Czytelników indywidualnych, jak i od instytucji, co powinno Państwu zapewnić bieżące otrzymywanie kolejnych wydawanych przez nas numerów.

Zamówienia na prenumeratę, jak i na poszczególne numery prosimy kierować na adres:

Wydawnictwo Naukowe PTTŻ

31-425 Kraków, Al. 29 Listopada 46

Nr konta: Deutsche Bank 24 Oddz. w Krakowie

19101048-91444-27016-1101