



**POLSKIE TOWARZYSTWO
TECHNOLOGÓW ŻYWNOŚCI**

ŻYWNOŚĆ

NAUKA•TECHNOLOGIA•JAKOŚĆ

Nr 1 (38)

Kraków 2004

Rok 11

ŻYWNOSĆ

Organ naukowy PTTŻ – kwartalnik

Nr 1 (38)

Kraków 2004

Rok 11

SPIS TREŚCI

| | |
|--|------------|
| Od Redakcji | 1 |
| WŁODZIMIERZ GRAJEK: Rola przeciwutleniaczy w zmniejszeniu ryzyka wystąpienia nowotworów i chorób układu krążenia | 3 |
| TERESA LESZCZYŃSKA, PAWEŁ M. PISULEWSKI: Wpływ wybranych składników żywności na aktywność psychofizyczną człowieka | 12 |
| STANISŁAW MLEKO: Żelowanie preparatów serwatkowych | 25 |
| STANISŁAW MLEKO: Otrzymywanie mieszanych żeli białek serwatkowych z wybranymi polisacharydami i badanie ich właściwości mechanicznych | 34 |
| HALINA GAMBUŚ, RAFAŁ ZIOBRO, TOMASZ JANKOWSKI, DOROTA GUMUL, MIECZYSAW PAŁASIŃSKI: Próba zastosowania pullulanazy do otrzymywania liniowych glukanów ze skrobi ziemniaczanej | 41 |
| AGNIESZKA KITA, GRAŻYNA LISIŃSKA: Wpływ rodzaju tłuszczu smaźalniczego na właściwości sensoryczne chipsów ziemniaczanych podczas przechowywania | 55 |
| JAROSŁAW KORUS, BOHDAN ACHREMOWICZ: Zastosowanie preparatów błonnikowych różnego pochodzenia jako dodatków do wypieku chlebów bezglutenowych | 65 |
| MIROSŁAW ŻMIJEWSKI: Wartość technologiczna ziarna odmian pszenicy jarej uprawianej w siewie czystym i mieszanym oraz przy stosowaniu fungicydów | 74 |
| GRAŻYNA KRASNOWSKA: Próba wykorzystania enzymów pochodzenia mikrobiologicznego do degradacji surowców zwierzęcych bogatych w tkankę łączną | 84 |
| GRAŻYNA KRASNOWSKA: Ocena właściwości proteolitycznych preparatów enzymatycznych uzyskanych z różnych szczepów drożdży <i>Yarrowia lipolytica</i> | 94 |
| TADEUSZ SZMAŃKO, ZBIGNIEW DUDA, JAROSŁAW SZCZEPAŃSKI: Wpływ przechowywania wędzonek w temperaturze bliskiej krioskopowej i w stanie zamrożonym na ich jakość sensoryczną | 105 |
| HALINA MAKAŁA, MICHAŁ OLKIEWICZ: Zasady opracowywania nowych produktów z uwzględnieniem oczekiwań konsumentów, na przykładzie mięsa i jego przetworów | 120 |
| GRAŻYNA MORKIS: Problematyka żywnościowa w ustawodawstwie krajowym | 134 |
| HENRYK KOSTYRA, ELŻBIETA KOSTYRA, KATARZYNA MARCINIAK-DARMOCHWAŁ: Współczesny leksykon wiedzy o żywności | 143 |
| STANISŁAW POPEK: Nowe książki | 146 |
| RECENZJA KSIĄŻKI: „Zarządzanie jakością i bezpieczeństwem żywności – integracja i informatyzacja systemów” | 148 |
| RECENZJA KSIĄŻKI: „Ryby i bezkręgowce morskie – pozyskiwanie, właściwości, przetwarzanie” | 151 |
| Technolog Żywności | 154 |

Zamieszczone artykuły są recenzowane

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

FOOD

The Scientific Organ of Polish Food Technologists' Society (PTTŻ) – quarterly

No 1 (38)

Kraków 2004

Vol. 11

CONTENTS

| | |
|--|------------|
| From the Editor | 1 |
| WŁODZIMIERZ GRAJEK: Role of antioxidants in reducing the occurrence risk of cancer and cardiac vascular diseases..... | 3 |
| TERESA LESZCZYŃSKA, PAWEŁ M. PISULEWSKI: Potential impact of selected nutrients on the human psychophysical activity..... | 12 |
| STANISŁAW MLEKO: Gelation of whey products | 25 |
| STANISŁAW MLEKO: Production of whey protein / polysaccharides mixed gels and investigation of their mechanical properties..... | 34 |
| HALINA GAMBUŚ, RAFAŁ ZIOBRO, TOMASZ JANKOWSKI, DOROTA GUMUL, MIECZYSAW PAŁASIŃSKI: An attempt to use pullulanase for the production of linear glucans from potato starch..... | 41 |
| AGNIESZKA KITA, GRAŻYNA LISIŃSKA: Types of frying oils and their impact on the sensory properties of potato chips during their storage | 55 |
| JAROSŁAW KORUS, BOHDAN ACHREMOWICZ: Fiber preparations of different origin used as additives in baking gluten-free breads..... | 65 |
| MIROSŁAW ŻMIJEWSKI: Technological quality of grains of spring wheat varieties cultivated in pure and mixed sowing and with use of fungicides | 74 |
| GRAŻYNA KRASNOWSKA: An attempt to use enzymes of microbiological origin for the degradation of animal products rich in connective tissue..... | 84 |
| GRAŻYNA KRASNOWSKA: Proteolytic qualities of enzymatic preparations obtained from various strains of the <i>yarrowia lipolytica</i> yeast..... | 94 |
| TADEUSZ SZMAŃKO, ZBIGNIEW DUDA, JAROSŁAW SZCZEPAŃSKI: The impact of storing processed meat products at near cryoscopic temperature and in a frozen state on their sensory properties | 105 |
| HALINA MAKAŁA, MICHAŁ OLKIEWICZ: The principles of developing new food products towards meeting the consumers' expectations, exemplified by meat and its products | 120 |
| GRAŻYNA MORKIS: Food Problems in Polish Legislation..... | 134 |
| HENRYK KOSTYRA, ELŻBIETA KOSTYRA, KATARZYNA MARCINIAK-DARMOCHWAŁ: Food Science Lexicon – Contemporary Terms..... | 143 |
| STANISŁAW POPEK: Book Reviews | 146 |
| REVIEW OF THE BOOK: "Food quality and safety management – integration and informatization of systems" | 148 |
| REVIEW OF THE BOOK: "Fish and sea vertebrates – harvesting, properties, and processing" | 151 |
| The Food Technologist. | 154 |

Only reviewed papers are published

Covered by: AGRO-LIBREX and Chemical Abstracts Service and IFIS

ISSN 1425-6959

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.
Szczegółowe informacje znajdują się na stronie **www.ptz.org**

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 Oddz. w Krakowie

70 1910 1048 0009 14444 1121 0001

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 hab. 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 Barylko-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 Naczka (Kanada), prof. dr Jan Pokorny (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 ŻYWNOŚCI
WYDAWNICTWO NAUKOWE PTTŻ

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

Nakład: 800 egz.

SKŁAD I DRUK:



Wydawnictwo Naukowe „Akapit”, Kraków

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

e-mail: wn@akapit.krakow.pl

WŁODZIMIERZ GRAJEK

ROLA PRZECIWUTLENIACZY W ZMNIEJSZANIU RYZYKA WYSTĄPIENIA NOWOTWORÓW I CHORÓB UKŁADU KRĄŻENIA

Streszczenie

W pracy omówiono aktywność biologiczną poszczególnych grup przeciwutleniaczy, wskazując na ich rolę w zmniejszaniu częstotliwości występowania nowotworów i chorób układu krążenia. Wskazano, że etiologia chorób nowotworowych obejmuje uszkodzenia oksydacyjne w DNA oraz uaktywnienie prokancerogenów pod wpływem aktywnych rodników. Przyczyną chorób krążenia jest proces miażdżycowy wywoływany przez oksydację frakcji LD-cholesterolu. Oba rodzaje chorób mogą być monitorowane przez szereg biomarkerów przydatnych w ocenie szybkości rozwoju zmian chorobowych. Ocena aktywności prozdrowotnej żywności przenosi się wyraźnie na poziom molekularny. Wyrazem tego są narodziny nutrigenomiki, nauki badającej wpływ żywienia człowieka na funkcjonowanie jego genomu.

Słowa kluczowe: przeciwutleniacze, rola ochronna, flawonoidy, fitoestrogeny, karotenoidy, tokoferole, biomarkery.

Wstęp

W ostatnim dziesięcioleciu zmienia się podejście do roli, jaką w kształtowaniu zdrowia człowieka odgrywa żywność. Ciężar prowadzonych badań przesuwa się w kierunku poznawania subtelnego oddziaływania aktywnych biologicznie składników na organizm człowieka na poziomie molekularnym. Szczególne zainteresowanie wzbudza aktywna rola niektórych substancji pokarmowych w kształtowaniu dobrego zdrowia i długowieczności oraz w procesach inicjacji, promocji i hamowania chorób, w szczególności chorób nowotworowych i układu krążenia. Problematyka ta ma szerszy zasięg i nie dotyczy wyłącznie żywności typu nutraceutyków, ale długofalowego wpływu żywienia człowieka na jego zdrowie. W tle tej problematyki należy dostrzegać związki żywienia człowieka z jakością życia, biologicznym bezpieczeństwem żywności i metabolomiką. Chodzi o nowe, całościowe, a jednocześnie pogłębione

podjęcie do roli poszczególnych związków chemicznych w procesach metabolicznych człowieka.

Przeciwutleniacze i ich aktywność biologiczna

Wśród substancji bioaktywnych zawartych w żywności niezwykle istotną rolę odgrywają przeciwutleniacze [11]. Można wśród nich wyróżnić dwie grupy związków. Pierwsze to przeciwutleniacze przecinające reakcje rodnikowe przez przekazanie im atomów wodoru lub elektronów, co powoduje przejście rodnika w związek o wyższej stabilności. Do takich związków można zaliczyć fenole typu galusanów, hydrochinonów, trihydroksy-butyro-fenonów i tokoferoli. Drugą dużą grupę obejmują substancje, których działanie ma charakter synergistyczny. Tworzą je związki zdolne do wychwytywania tlenu oraz do chelatowania jonów biorących udział w tworzeniu się rodników. Ich aktywność polega na przekazywaniu wodoru do fenoksyrodników, przez co przywracana jest im pierwotna aktywność przeciwutleniająca. Do tej grupy można zaliczyć substancje wychwytyjące tlen, jak: kwas askorbinowy, askorbylopalmitynian, związki chelatujące metale, np. kwas cytrynowy, i inne wtórne antyoksydanty – aminokwasy, flawonoidy, witamina A, β -karoten, selen i wiele innych.

Jedną z największych grup przeciwutleniaczy są polifenole [2]. Dotychczas zidentyfikowano ponad 8000 związków chemicznych o charakterze polifenolowym, które uporządkowano w ponad 10 klas. Jedną z najważniejszych klas polifenoli są flawonoidy [3]. Podstawowa struktura tych związków składa się z trzech aromatycznych pierścieni. Obejmują one flawony, flawonole, izoflawony i chalkony. Mają zdolność wychwytywania anionów nadtlennokowych, rodników lipidowych i rodników hydroksylowych. Niektóre z flawonoidów wykazują zdolność do wyłapywania singletowych rodników tlenowych oraz do przeprowadzania reakcji chelacji, a nawet inhibicji lipooksygenaz. Wśród flawonoidów ważną rolę odgrywają flawonole. Obejmują one kwercyтынę, kamferol i katechinę. Duże ilości tych przeciwutleniaczy można spotkać w jabłkach, cebuli, brokułach, jagodach, oliwkach, sałacie, czerwonym winie i w czekoladzie. Ich aktywność biologiczna polega na hamowaniu utleniania frakcji LDL, zwiększaniu zawartości „dobrego” cholesterolu HDL, zmniejszaniu ogólnej zawartości cholesterolu w surowicy i hamowaniu tworzenia się blaszek miażdżycowych. Ponadto flawonole posiadają aktywność przeciwmutagenną i zmniejszają ryzyko powstawania i rozwoju guzów nowotworowych.

Flawanole, jak: epigallokatechino-3-galusan, epigallokatechina, epikatechino-3-galusan i epikatechina, występują głównie w czarnej i zielonej herbacie oraz w nasionach kakao i w konsekwencji również w czekoladzie. Wykazują one szerokie działanie biologiczne. Jako przeciwutleniacze ograniczają utlenianie frakcji LDL cholesterolu. Skutkiem tego jest znaczne ograniczenie zmian miażdżycowych. Do

aktywności biologicznej flawanoli należy również zaliczyć działanie detoksykacyjne w stosunku do kancerogenów, a także działanie antynowotworowe i antymutagenne.

Dużą grupę związków o charakterze antyoksydantów stanowią fitoestrogeny [10]. Należą do nich między innymi lignany, izoflawony, kumestany i laktony kwasu rezorcylowego. Najbardziej znanymi przedstawicielami tej grupy są enterolakton, enterodiol i kumestrol. Substancje te występują w oleju lnianym, lucernie i koniczynie. Związki te chronią frakcję LDL przed utlenianiem i tym samym zapobiegają odkładaniu się blaszki miażdżycowej w ścianach tętnic. Skutkiem tego jest obniżanie ryzyka choroby niedokrwiennej serca. Warto jednak zaznaczyć, że w odłuszczonych nasionach lnu stwierdzono odwrotny efekt, tj. aktywność utleniającą.

Następną dużą grupę fitoestrogenów stanowią izoflawony. Występują one głównie w nasionach roślin strączkowych, w tym w nasionach soi. Do najbardziej znanych należą genisteina i daidzeina. Aktywność biologiczna izoflawonów jest bardzo szeroka. Obejmuje ona redukcję zawartości całkowitej cholesterolu, a szczególnie frakcji LDL cholesterolu. Z uwagi na właściwości przeciwutleniające izoflawony chronią LDL przed utlenianiem. Ponadto wykazano, że obecność tych związków sprzyja zwiększeniu poziomu frakcji HDL cholesterolu. Można więc stwierdzić, że spożywanie izoflawonów ogranicza zagrożenia cholesterolowe i zmniejsza ryzyko chorób układu krwionośnego. Obecność izoflawonów hamuje także angiogenezę w guzach rakowych oraz wspiera apoptozę. Podobnie jak inne fitoestrogeny, wykazują one duże powinowactwo do receptorów ludzkich estrogenów i mogą skutecznie konkurować z nimi o dostęp do nich. W ten sposób zapobiegają inicjacji nowotworów estrogeno-zależnych, jak np. rak piersi lub rak prostaty.

W ostatnich latach zwrócono uwagę na resweratrol, występujący w czerwonych winogronach i czerwonym winie. Jest to wyjątkowo aktywny przeciwutleniacz. Skutecznie zapobiega utlenianiu frakcji LDL cholesterolu oraz wykazuje działanie detoksykacyjne [7]. Jest czynnikiem przeciwmutagennym oraz hamującym inicjację i rozwój nowotworów. Ponadto zapobiega zakrzepom krwi. Badania epidemiologiczne wykazały ochronny wpływ spożywania niewielkich ilości czerwonego wina przed zawałami serca.

Do najbardziej znanych przeciwutleniaczy należą karotenoidy, w tym β -karoten, luteina, likopen i zeaksantyna. Substancje te rozpuszczają się doskonale w tłuszczach, chroniąc nienasycone kwasy tłuszczowe przed utlenianiem. Najsilniejszą aktywność przeciwutleniającą wykazuje likopen, występujący głównie w pomidorach i jego przetworach oraz w czerwonej papryce i grapefruitach [12]. Jego aktywność polega głównie na zapobieganiu utlenianiu frakcji LDL cholesterolu i obniżaniu ogólnego poziomu cholesterolu. W ten sposób obniża on ryzyko wystąpienia choroby CVD. Likopen wykazuje też działanie antymutagenne i przeciwnowotworowe, szczególnie w stosunku do raka płuc.

W medycynie ludowej od dawna zwraca się uwagę na bioaktywną rolę czosnku i cebuli. Zawarte w nich składniki organosiarkowe odznaczają się wyjątkowo silną aktywnością biologiczną, w tym działaniem przeciwutleniającym. Obniżają zawartość cholesterolu całkowitego oraz frakcji LDL-C, zmniejszają poziom triacylogliceroli, są czynnikiem efektywnie obniżającym ciśnienie krwi, biorą udział w procesach detoksykacji kancerogenów i hamują rozwój nowotworów. Jednak spotyka się też doniesienia wskazujące na możliwość stymulacji tworzenia guzów nowotworowych przez czosnek.

Wśród roślinnych przeciwutleniaczy wymienia się także sterole, jak sitostanol, stigmasterol, campesterol, występujące w olejach roślinnych. Odgrywają one ważną rolę w ochronie nienasyconych kwasów tłuszczowych, obniżają poziom cholesterolu i zapobiegają utlenianiu frakcji LDL [13]. Istnieją jednak informacje, że obniżają one wchłanianie karotenoidów.

W ochronnym działaniu przeciwutleniającym fundamentalną rolę odgrywają tokoferole i tokotrienole. Stanowią one jedną z najważniejszych grup naturalnych przeciwutleniaczy. Obie klasy występują w czterech formach izomerycznych. Najważniejszym przedstawicielem tej grupy jest α -tokoferol, spotykany praktycznie we wszystkich olejach roślinnych. Tokoferole są donorami wodoru z grup hydroksylowych do rodników nadtlenkowych tłuszczów. Niesparowany elektron przemieszcza się do struktury pierścieniowej, powodując przejście cząsteczki w stan trwały i nieaktywny. Witamina E znajduje się zwykle w membranach fosfolipidowych, chroniąc kwasy tłuszczowe przed utlenieniem. Spożycie większej ilości wit. E skutecznie zabezpiecza DNA przed uszkodzeniami oksydacyjnymi. Bogatym źródłem tokoferoli są zarodki pszenne, orzechy i nasiona roślin oleistych.

Do najbardziej znanych przeciwutleniaczy należy kwas askorbinowy. Znajduje się on w większości owoców i w wielu warzywach. Jest najsilniej działającym przeciwutleniaczem rozpuszczalnym w wodzie. Badania epidemiologiczne wykazały, że witamina C działa ochronnie w stosunku do chorób nowotworowych, szczególnie żołądka i przełyku.

Rola przeciwutleniaczy w prewencji chorób układu krążenia

Etiologia większości chorób krążenia jest związana przede wszystkim z procesem zmian miażdżycowych. Jej istotą jest odkładanie się na ścianach naczyń tętniczych blaszki miażdżycowej, co prowadzi do zwężenia naczyń krwionośnych i wielu chorób, m. in. choroby wieńcowej. Tworzenie blaszki miażdżycowej stanowi skomplikowany i długotrwały proces. Istotną rolę odgrywają w nim lipoproteiny o małej gęstości (LDL). Wnikają one do wnętrza śródbłonna naczyń tętniczych, gdzie ulegają stopniowemu utlenieniu (od mmLDL do oxLDL). Sam mechanizm utleniania frakcji LDL w komórkach nie jest dobrze poznany. Jednocześnie do śródbłonna wnikają z krwi

monocyty. Lipoproteiny w formie mało utlenionej (mmLDL) aktywują komórki śródbłonna do ekspresji białek MCP-1 i M-CSF. Białka te wspomagają wejście monocytów do wnętrza śródbłonna, ich dojrzewanie i przekształcenie się w makrofagi o charakterystycznej, piankowej budowie. Te ostatnie wyposażone są w specjalne receptory wyłapujące utlenioną formę lipoprotein (oxLDL). W przypadku, gdy ilość rodników jest dostatecznie duża następuje uszkodzenie części białkowej frakcji LDL i makrofagi w procesie fagocytozy pobierają utlenione oxLDL, co ostatecznie doprowadza do nagromadzenia się w ich komórkach dużych ilości lipidów. W takim stanie w ścianach tętnic tworzą się tłuszczowe złogi (płytki miażdżycowe), ograniczające krążenie krwi i sprawność całego układu krwionośnego. Procesowi temu towarzyszy wydzielanie dużych ilości cytokin.

Zahamowanie procesu utleniania frakcji LDL znacznie ogranicza choroby układu krwionośnego. Na podstawie badań epidemiologicznych wykazano silny związek między spożyciem świeżych owoców a zmniejszeniem się ryzyka choroby wieńcowej. Do najbardziej aktywnych przeciwutleniaczy chroniących frakcję LDL należy zaliczyć α -tokoferol, kwas askorbinowy, flawonoidy, likopen, luteinę, β -karoten, kryptoksantynę i zeaksantynę [8].

Rola przeciwutleniaczy w ograniczaniu ryzyka chorób nowotworowych

Współcześnie, obok chorób układu krążenia, drugą najgroźniejszą chorobą, powodującą największą liczbę zgonów, jest rak. Proces nowotworowy jest zjawiskiem długotrwałym i wielostopniowym. Jedną z głównych przyczyn inicjacji kancerogenezy są uszkodzenia DNA spowodowane przez czynniki mutagenne (genotoksyczne), np. wolne rodniki [6]. Jako przykład można podać atak rodników hydroksylowych na zasady azotowe w nukleotydach, powodujący wysycenie podwójnego wiązania w pierścieniu pirymidynowym między C5 i C6. Kluczową rolę w transformacji nowotworowej komórek odgrywają mutacje w genach, które kontrolują wzrost i różnicowanie się komórek oraz współuczestniczą w łączeniu zewnątrzkomórkowej i wewnątrzkomórkowej sygnalizacji z odpowiedzią komórkową. Należą do nich protoonkogeny, geny supresorowe i geny kodujące białka naprawiające błędy w uszkodzonym DNA. Mutacje w obrębie tych genów, wywołane między innymi przez wolne rodniki, mogą być przyczyną inicjacji, promocji i progresji raka. Na podstawie badań epidemiologicznych wykazano, że przyjmowanie dużych ilości witaminy E w połączeniu z innymi witaminami antyoksydacyjnymi, jak C i A, znacznie ogranicza ryzyko chorób nowotworowych. Do czynników hamujących promocję i progresję nowotworów zalicza się β -karoten, kurkuminę, gingerol, galusan epigallokatechiny i resweratrol [16].

Obok oksydacyjnych uszkodzeń DNA, w procesie nowotworowym ważną rolę odgrywają kancerogeny, które działają jako czynniki mitogenne, sprzyjając podziałom,

lub jako czynniki mutagenne. W większości przypadków kancerogeny występują w formie prokancerogenów. Przejście prokancerogenów w formę aktywną jest związane z procesami utleniania, redukcji i hydrolizy, dzięki czemu prokancerogeny są lepiej rozpuszczalne. Reakcje te katalizują enzymy tzw. pierwszej fazy, w tym cytochrom P450. Do enzymów obecnych w jelitach, które biorą udział w przekształcaniu prokancerogenów w kancerogeny należą: azoreduktaza, β -glukuronidaza, reduktaza kwasu glikocholowego i nitroreduktaza. W przewodzie pokarmowym produkowane są także enzymy tzw. drugiej fazy, związane z procesami detoksykacji kancerogenów. Przykładem takiego enzymu jest transferaza S-glutationowa, katalizująca reakcje, w których produkty I fazy tworzą połączenia ułatwiające ich neutralizację i wydalanie z organizmu. Wśród czynników ograniczających aktywację prokancerogenów należy wymienić kwas allagowy, sulforaphan i flawonoidy. Strategia ochronna, związana z właściwym żywieniem, polega na hamowaniu aktywności enzymów I fazy i stymulacji produkcji enzymów II fazy.

Przeciwutleniacze odgrywają także istotną rolę w hamowaniu rozwoju istniejących guzów. Aktualnie postuluje się trzy zasadnicze mechanizmy hamowania i niszczenia guzów nowotworowych. Pierwszy z nich polega na podniesieniu aktywności immunologicznej organizmu, co prowadzi do lepszej lokalizacji komórek nowotworowych i ich niszczenia. Wśród czynników niszczących wymienia się czynnik nekrozy guzów alfa (TNF- α) produkowany przez makrofagi i czynnik nekrozy guzów beta (TNF- β), produkowany przez limfocyty. Wykazano, że przeciwutleniacze, takie jak α -tokoferol i β -karoten, zwiększają produkcję komórek cytotoksycznych, aktywują je do produkcji dużych ilości cytokin i ułatwiają ich migrację do komórek rakowych. W ten sposób dochodzi do niszczenia proliferującej formy guza. Drugi mechanizm niszczenia guzów ma charakter genetyczny. Również w nim uczestniczą przeciwutleniacze. Ich rola polega na podniesieniu ekspresji dzikiego typu genu *p53*, którego produkt ma charakter białka supresorowego, i zmniejszeniu ekspresji mutantów genu *p53*, odgrywających rolę onkogenów. Wykazano także, że β -karoten ma właściwości supresji innych onkogenów. Oznacza to, że antyoksydanty pełnią istotną rolę w kontroli aktywności genu *p53*. Ponadto są doniesienia wskazujące na stymulację niektórych białek szoku termicznego, np. *hsp 70*, przez β -karoten. Białka te odgrywają prawdopodobnie rolę „włączników” systemu supresorowego opartego na genie *p53*. Trzecim ważnym mechanizmem w hamowaniu rozwoju guzów jest inhibicja procesu angiogenezy, tj. tworzenia systemu ukrwienia guza. Również w tym procesie uczestniczą przeciwutleniacze, jak witamina E, β -karoten i glutation.

Należy podkreślić, że działanie przeciwutleniaczy zależy od przyjmowanej dawki. Przy zbyt wysokich dawkach zmienia się ich rola i z substancji ochronnych same stają się prooksydantami, prowadząc do bardzo groźnych objawów chorobowych. Zagadnienia te

zostały szeroko omówione w literaturze poświęconej skutkom pobierania zbyt dużych dawek witaminy C, E, karotenoidów i flawonoidów [1].

Biomarkery

W ocenie wpływu składników żywnościowych na funkcje organizmu ludzkiego stosuje się tzw. biomarkery. Pod tym pojęciem rozumie się czynniki lub wskaźniki obrazujące przebieg danego procesu biologicznego [9]. Mają one charakter biochemiczny, fizjologiczny lub behawiorystyczny, w zależności od badanego procesu. Oznaczanie biomarkerów powinno być łatwe do wykonania, powtarzalne, jednoznaczne, czułe i specyficzne. W obszernej publikacji brytyjskiego Towarzystwa Żywnościowego zatytułowanego „Naukowe koncepcje żywności funkcjonalnej: dokument uzgodnień” przedstawiono podział i wymagania stawiane poszczególnym rodzajom biomarkerów [4].

W ocenie działania ochronnego przeciwutleniaczy w stosunku do chorób nowotworowych lub układu krążenia w badaniach krótkoterminowych stosuje się szeroko zastępcze biomarkery końcowego punktu (surrogate endpoint biomarkers; SEBs). Einspahr i wsp. [5] przedstawiają listę biomarkerów stosowanych w badaniach nad chemoprewencją i w oznaczaniu ryzyka raka jelita grubego. Obejmuje ona następujące wskaźniki:

- markery proliferacji komórkowej: profile mitotyczne, wybarwienie antygenowe jąder proliferujących komórek, oznaczanie antygeny Ki-67, wybarwienie z bromodeoksyurydyną, ocena indeksu wbudowania znakowanej [³H] tymidyny w fazie S cyklu komórkowego na podstawie autoradiografii,
- markery różnicowania się komórek: oznaczanie antygeny mucyny, cytokeratyn, antygenów grupowych krwi,
- markery apoptozy: badanie morfologii komórek w mikroskopie elektronowym po wybraniu barwnikiem Feulgena, oznaczanie subdiploidowych pików w cytometrze przepływowym, znakowanie przecięć nici DNA, elektroforeza żelowa (DNA ladder) w celu oznaczenia fragmentacji DNA,
- zmiany genetyczne: mutacje onkogenów *K-ras*, mutacja lub utrata genów supresji transformacji nowotworowej APC, DCC i MCC (rak jelita grubego), p53 (większość nowotworów), p21 (rak jelita grubego), względnie odpowiadających im białek,
- aberujące focci w kryptach: wielokrotność, rozmiary, zmiany genetyczne,
- badanie jelitowych adenomów polipowych: krotność występowania, rozmiary, histopatologia, stopień dysplazji.

Wymienione wyżej rodzaje biomarkerów są stosowane także do analizy innych nowotworów.

Jako markery do wykrywania uszkodzeń DNA przez rodniki tlenowe polecana jest analiza mutacji punktowych, delecji i amplifikacji genów za pomocą metody COMET oraz wykrywanie uszkodzeń zasad w nukleotydach, głównie 8-hydroksydeoksyguanidynę, metodą wysokosprawnej chromatografii ciekowej [14]. Ostatnio proponowane są także oznaczenia przy użyciu przeciwciał. Należy jednak pamiętać, że ogólna ocena uszkodzeń DNA nie zawsze daje pogląd na uszkodzenia w genach kluczowych dla rozwoju nowotworów.

Opracowano także markery do wykrywania procesów oksydacyjnych związanych z chorobami układu krążenia. Dotyczą one utleniania lipoprotein w krwioobiegu oraz nienasyconych kwasów tłuszczowych w fosfolipidach membranowych. Szczególnie istotne jest pod tym względem utlenianie frakcji LDL, prowadzące do zmian miażdżycowych. Jako markery stosuje się oznaczanie poziomu wodoronadtlenków lipidów lub ich pochodnych (np. malonodialdehydu), względnie izoprostanów.

Aktualnie obserwuje się początki powstawania nutrigenomiki, która proponuje nowe podejście do monitorowania zjawisk biologicznych w organizmie ludzkim związanych z odżywianiem. Nowa koncepcja polega na możliwie rozbudowanej analizie wielu drobnych, nawet dyskretnych zmian związanych z genetyczną odpowiedzią na bodźce pokarmowe, w miejsce analizy reakcji związanych z ekspresją pojedynczych genów, jak to ma miejsce w badaniach nad wpływem leków [15]. Takie podejście wymaga wcześniejszej znajomości efektów fizjologicznych w organizmie w odpowiedzi na dany czynnik żywieniowy. Pojedynczy składnik żywności może mieć wiele znanych i nieznanych skutków biochemicznych i fizjologicznych, które trudno wykryć za pomocą dotychczas opracowanych markerów (pojedynczy gen, pojedyncze białko lub pojedynczy metabolit). Trudności zwiększa jeszcze fakt, że w diecie poszczególne składniki funkcjonalne występują w mieszaninie z innymi substancjami. Ponadto w organizmie panuje homeostaza, która polega na utrzymaniu równowagi chemicznej między wzajemnie znoszącymi się odwrotnymi reakcjami metabolicznymi. Kluczową rolę odgrywa więc uchwycenie i integracja zmian związanych z daną chorobą (lub zjawiskiem fizjologicznym) na wszystkich poziomach informacji molekularnej (mRNA, białko, metabolit). Należy jednak stwierdzić, że tego typu markery są dopiero w początkowym stadium badań i trudno sugerować ich użycie w tym projekcie.

Podsumowanie

Przeciwutleniacze zawarte w surowcach roślinnych odgrywają aktywną rolę w ochronie organizmu przed chorobami nowotworowymi i miażdżycowymi. Jedną z podstawowych przyczyn tych chorób są uszkodzenia oksydacyjne w DNA oraz utlenianie niektórych polimerów organicznych w komórkach. Zmiany chorobowe mogą być wykrywane za pomocą oceny poziomu różnego rodzaju biomarkerów.

Literatura

- [1] Bast A., Haenen G.R.M.M.: The toxicity of antioxidants and their metabolites. *Environ Toxicol. Pharmacol.*, 2002, **11**, 251-258.
- [2] Bravo L.: Polyphenoles: chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance. *Nutr. Rev.*, 1998, **56**, 317-333.
- [3] Czeczot H.: Biological activities of flavonoids – a review. *Pol. J. Food Nutr. Sci.*, 2000, **9/50**, 3-13.
- [4] Diplock A.T., Aggett P.J., Ashwell M., Bornet F., Fern E.B., Roberfrid M.B.: Scientific concepts of functional foods in Europe: consensus document. *Brit. J. Nutr.*, 1999, **18**(supl. 1), 1-27.
- [5] Einspahr J.G., Alberts D.S., Gapstur S.M.: Surrogate end-point biomarkers as measure of colon risk and their use in cancer chemo-prevention trials. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.*, 1997, **6**, 37-48.
- [6] Ferguson L.R.: Role of plant polyphenoles in genomic stability. *Mutation Res.*, 2001, **475**, 89-111.
- [7] Frankel E.N., Kanner J., German J.B., Parks E., Kinsella J.: Inhibition of oxidation of human low-density lipoprotein by phenolic substances in red wine. *Lancet*, 1993, **341**, 454-457.
- [8] Gey K.F.: Ten-years retrospective on the antioxidant hypothesis of arteriosclerosis: threshold plasma levels of antioxidant micronutrients related to minimum cardiovascular risk. *J. Nutr. Biochem.*, 1995, **6**, 206-236.
- [9] Griffith H.R., Moller L., Bartosz G., Bast A., Bertoni-Freddari C., Collins A., Cooke M., Coolen S., Haenen G., Hoberg A.M., Loft S., Lunec J., Oliński R., Parry J., Pompella A., Poulsen H., Verhagen H., Astley S.B.: Biomarkers. *Mol. Aspects Med.*, 2002, **23(1-3)**, 101-208.
- [10] Knight D.C., Eden J.A.: Phytoestrogens – a short review. *Maturitas*, 1995, **22**, 167-175.
- [11] Kris-Etherton P.M., Hecker K.D., Bonanome A., Coval S.M., Binkoski A.E., Hilpert K.F., Griel A.E.: Bioactive compounds in foods: their role in the prevention of cardiovascular disease and cancer. *Am. J. Med.*, 2002, **113**, 71-88.
- [12] Nguyen M.L., Schwatz S.J.: Lycopene: chemical and biological properties. *Food Technol.*, 1999, **53**, 38-45.
- [13] Niinkoski H., Vikari J., Palmmu T.: Cholesterol-lowering effect and sensory properties of sitostanol ester margarine in normocholesterolemic adults. *Scand J. Nutr.*, 1997, **41**, 9-12.
- [14] Oliński R., Gackowski D., Foksiński M., Rozalski R., Roszkowski K., Jaruga P.: Oxidative DNA damage: assessment of the role in carcinogenesis, arteriosclerosis, and acquired immunodeficiency syndrome (1). *Free Radic. Biol. Med.*, 2002, **15**, 192-200.
- [15] Ommen van B., Stierum R.: Nutrigenomics: exploiting systems biology in the nutrition and health arena. *Curr. Opin. Biotechnol.*, 2002, **13**, 517-521.
- [16] Shur Y-J.: Molecular mechanisms of chemo-preventive effects of selected dietary and medicinal phenolic substances. *Mutation Res.*, 1999, **428**, 305-327.

ROLE OF ANTIOXIDANTS IN REDUCING THE OCCURRENCE RISK OF CANCER AND CARDIAC VASCULAR DISEASES

S u m m a r y

In this paper, the biological activity of individual groups of antioxidants is discussed with regard to the prevention of two chronic diseases: cancer and cardiac vascular disease. It is pointed out that the cancer etiology is related to oxidative damages of DNA and to activation of pro-carcinogenic factors by free radicals whereas the cardiac vascular disease is initiated by LDL oxidation. The development of both

diseases can be monitored by specific biomarkers that appear useful while estimating the developmental rate of pathogenic changes. For the purpose of appraising biological activity of functional foods, molecular analysis of antioxidative effects is employed. A new science has been established: nutrigenomics, which is the study of the effect of human nutrition on his genome functioning.

Key words: antioxidants, protective role, flavonoids, phytoestrogenes, carotenoids, tocopherols, biomarkers. ☒

TERESA LESZCZYŃSKA, PAWEŁ M. PISULEWSKI

WPLYW WYBRANYCH SKŁADNIKÓW ŻYWNOSCI NA AKTYWNOŚĆ PSYCHOFIZYCZNĄ CZŁOWIEKA

Streszczenie

Dokonano przeglądu potencjalnego wpływu wybranych składników żywności na aktywność umysłową oraz ryzyko wystąpienia dysforii, demencji i depresji. Przedstawiono dowody na kluczową rolę m.in. witamin z grupy B i witamin przeciwutleniających w ochronie przed niekorzystnymi zmianami w naczyniach krwionośnych, aterosklerozą i demencją. Wskazano również na udział choliny, alkoholu i kofeiny w funkcjonowaniu centralnego układu nerwowego oraz diety na syntezę neuroaktywnego składnika – β -endorfiny.

Słowa kluczowe: witaminy z grupy B, witaminy przeciwutleniające, cholina, alkohol, kofeina, endorfiny, aktywność umysłowa, dysforia, demencja, depresja.

Wprowadzenie

Dotychczasowe metody badań dotyczące wpływu składników żywności na funkcje psychofizyczne człowieka nie są ujednoczone, a przedstawiane na ich podstawie wnioski najczęściej niejednoznaczne. Jednak liczne dowody wskazują na to, że pomiędzy sposobem żywienia, stanem odżywienia a aktywnością umysłową i samopoczuciem człowieka mogą występować istotne zależności. Ryzyko wystąpienia depresji i skorelowanego z nią obniżenia aktywności umysłowej może zależeć m.in. od rodzaju spożywanej diety. Niewłaściwa dieta, poprzez wpływ na stan naczyń krwionośnych i zwiększanie ryzyka wystąpienia aterosklerozy, może skutkować pogorszeniem funkcji umysłowych i samopoczucia, a u ludzi starszych może przyczynić się do przedwczesnej demencji [17].

Przewiduje się, że do roku 2020 wśród przyczyn obniżających zdolność działania, depresja będzie plasować się na drugim miejscu po chorobie niedokrwiennej serca, a przed chorobami naczyń mózgowych. Oczywiście jest zatem, że identyfikowanie

Dr hab. inż. T. Leszczyńska, prof. dr hab. P.M. Pisulewski, Katedra Żywnienia Człowieka Akademii Rolniczej, al. 29 listopada 46, 31-425 Kraków, tel.(12) 662-50-19, e-mail: tleszczyńska@poczta.onet.pl

modyfikowalnych czynników ryzyka tych chorób (włączając w to czynniki ryzyka związane z dietą) staje się bardzo ważnym zadaniem [52].

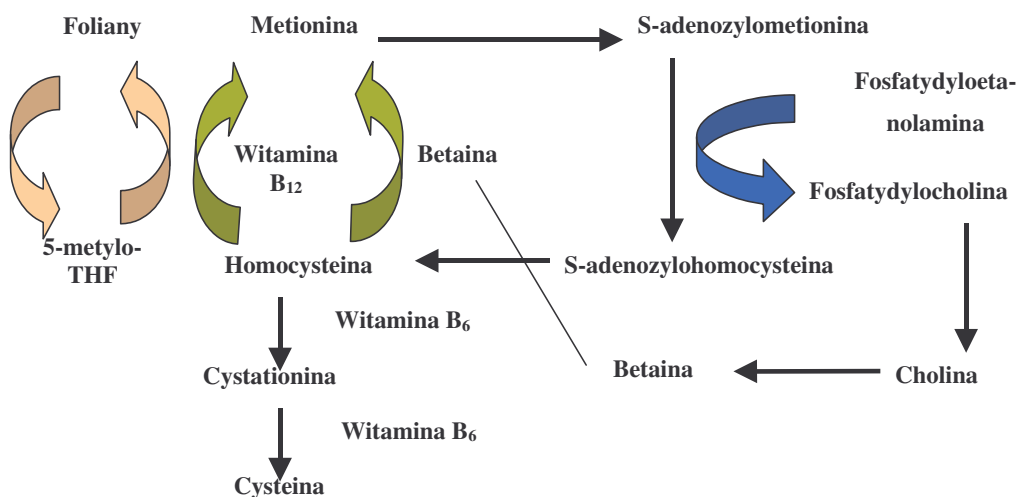
Witaminy z grupy B

Witaminy z grupy B wpływają na funkcjonowanie centralnego i peryferyjnego układu nerwowego. Witamina B₁ odgrywa istotną rolę w funkcjonowaniu tkanki nerwowej, w której aktywną formą jest trifosforan tiaminy. Związek ten wywiera korzystny wpływ na układ serotonino- i adrenergiczny, uczestniczy w przekazywaniu impulsów nerwowych. Witamina B₂ jako przeciwutleniacz zapobiega peroksydacji lipidów. Jest ona niezbędna do utrzymania w postaci zredukowanej glutationu, związku chroniącego przed szkodliwym działaniem wolnych rodników. Niedobór witaminy B₆ może powodować różnego rodzaju zmiany neurologiczne, w tym przedwczesne starzenie się neuronów wskutek zaburzeń w syntezie amin katecholowych, zmniejszonej ilości kwasu γ -aminomasłowego (GABA) i zmian składu aminokwasowego w niektórych obszarach mózgu. Brak kobalaminy w diecie zmniejsza ilość zredukowanego glutationu w erytrocytach oraz w wątrobie i może osłabiać układ przeciwutleniający. Niacyna jest niezbędna do prawidłowego funkcjonowania mózgu i obwodowego układu nerwowego, bierze udział w syntezie kortyzolu, tyroksyny i insuliny [68].

Deficyt w organizmie witamin: B₁, B₂, B₆, B₁₂ i kwasu foliowego może być przyczyną irytacji, depresji i degeneracji mieliny, a brak wit. B₆ i B₁₂ neuropatii peryferyjnej [54]. Jednym z możliwych skutków braku tych witamin, w odniesieniu do obniżania aktywności umysłowej, są zaburzenia w metabolizmie homocysteiny. Podniesiony poziom homocysteiny w osoczu jest niezależnym czynnikiem ryzyka rozwoju wielu chorób sercowo-naczyniowych. Tym samym jest to następny potencjalny czynnik leżący u podstaw związku pomiędzy aterosklerozą i osłabieniem sprawności umysłowej [64]. Poziom w osoczu syntetyzowanej z metioniny homocystyny jest ujemnie skorelowany z poziomem wit. B₁₂ [27, 33], wit. B₆ i kwasu foliowego [56]. Witamina B₆ jako kofaktor β -syntetazy cystationiny, katalizuje proces formowania cystationiny z homocysteiny i seryny, podczas gdy witamina B₁₂ i kwas foliowy są zaangażowane w proces zamiany homocysteiny z powrotem w metioninę (rys. 1).

Stężenie w surowicy krwi metabolitu homocysteiny – kwasu metylomalonowego może stanowić niebezpośredni wskaźnik niedoborów witaminy B₁₂ [31]. Brak lub deficyt β -syntetazy cystationiny prowadzi do wydzielania w moczu dużych ilości homocystyny, dimera homocysteiny. Nieleczona homocystynuria powoduje poważne choroby naczyniowe, zakłócenia wzrostu i rozwoju organizmu oraz przedwczesną śmierć. Deficyt β -syntetazy cystationiny występuje u około 0,1–1% całej populacji ludzi [12, 64].

Uzupełnianie diety kompleksem witamin z grupy B powoduje obniżenie poziomu homocysteiny w surowicy krwi zarówno wśród starszych [27], jak i młodszych osób [66]. Wzrostowi stężenia homocysteiny w osoczu, obok niedoborów witamin B₆, B₁₂ i kwasu foliowego w diecie, sprzyja dieta wysokobiałkowa [32, 52].



Rys. 1. Interakcje składników odżywczych: cholina, foliany, witamina B₁₂ i metionina.

Fig. 1. Interactions among the nutrient components: Choline, Folate, Vitamin B-12, and Methionine.

Poza wymienionymi mechanizmami, istnieją także inne łączące poziom witamin i poziom homocysteiny z funkcjonowaniem umysłowym (i nastrojem). Przykładowo, homocysteina będąca prekursorem cysteiny oraz kwasu homocysteinowego bierze udział w neurodegeneracji, niezależnie od aterosklerozy. Ten prawdopodobny mechanizm jest zgodny z konkluzją wynikającą z badań Riggsa i wsp. [50] mówiącą, że korelacja pomiędzy stężeniem homocysteiny we krwi a funkcjonowaniem umysłowym nie miała związku z występowaniem chorób naczyniowych. Podobnie w badaniach osób starszych z depresją, poziom homocysteiny był wyższy wśród tych z chorobami naczyń krwionośnych, ale istotną korelację pomiędzy stężeniem homocysteiny a osłabionym funkcjonowaniem umysłowym ($P=0,03$) uzyskano jedynie wśród osób, u których nie stwierdzano chorób naczyniowych [7]. W Projekcie Rotterdamskim [25] wykazano brak istotnej korelacji pomiędzy poziomem homocysteiny w osoczu a sprawnością umysłową.

Young [67] wykazał zależność pomiędzy niskim poziomem kwasu foliowego i depresją, która może być częściowo tłumaczona zmianami poziomu S-adenozylometioniny i serotoniny w mózgu. Przemiana homocysteiny do metioniny w obecności kwasu foliowego jest głównym źródłem syntezy S-adenozylometioniny (rys. 1). Serotonina ulega w szyszynce acetylacji, tworząc acetylo-5-hydroksytryptaminę, z

której przy udziale hydroksy-indolo-O-metylotransferazy i S-adenozylometioniny ostatecznie powstaje N-acetylo-5-metoksytryptamina, czyli melatonina. Melatonina działa jako zmiatacz wolnych rodników, co chroni tkanki przed uszkodzeniem i przedwczesnym starzeniem. Jest też czynnikiem poprawiającym sen fizjologiczny. S-adenozylometionina uczestniczy również w syntezie amin katecholowych [63]. Dowody terapeutycznych korzyści płynących z kwasu foliowego w leczeniu depresji przedstawili również inni badacze [2, 18]. Depresja ma związek z chorobami naczyń mózgowych. To współistnienie chorób jest częściowo tłumaczone zniszczeniem przedniej i podkorowej części mózgu z powodu jego niedokrwienia [47].

Jest zatem możliwe, że niedobór witamin z grupy B u osób starszych w Wielkiej Brytanii (wynikający z niskiego ich spożycia, albo niskiego poziomu wchłaniania) jest ważnym czynnikiem obniżenia wydajności umysłowej, a bezpośrednią przyczyną jest podniesiony poziom homocysteiny. Istnieje dowód sugerujący, że uszkodzenia neuronów w chorobie Alzheimera są spowodowane homocysteiną [17]. McCaddon i wsp. [35] udowodnili, że osoby z tym schorzeniem wykazywały istotnie wyższy poziom homocysteiny w osoczu, w porównaniu z osobami należącymi do grupy kontrolnej. To odkrycie zostało potwierdzone w innych badaniach [29], w których także dowiedziono, że zarówno wśród osób dotkniętych chorobą Alzheimera, jak i wśród osób chorujących na inne formy demencji, poziom homocysteiny we krwi może być wyznacznikiem stanu neurofizjologicznego.

Wiele opublikowanych badań, wskazujących na powiązania pomiędzy poziomem witamin i wydajnością umysłową wśród osób starszych [6, 50, 61], nie dostarcza jednak jasnych informacji o możliwych mechanizmach. W jednym z badań interwencyjnych nie wykazano wpływu witamin na aktywność umysłową [11], chociaż prawdopodobnie mogło to wynikać z niskiej liczby badanych i relatywnie krótkiego terminu suplementacji diety (5 tygodni). Rezultaty osiągnięte przez Deijena i wsp. [13] wskazywały na widoczne polepszenie sprawności umysłowej po podaniu witaminy B₆ większej populacji zdrowych, utrzymujących się samodzielnie mężczyźni w wieku 70–79 lat.

Wyższa koncentracja witaminy B₁₂ (P = 0,04) i kwasu foliowego (P = 0,003) w osoczu osób w wieku średnim i starszym i niższa koncentracja homocysteiny (P < 0,01) skutkowały lepszym rozwiązywaniem testów rysowania przestrzennego, podczas gdy wydajność w dwóch testach pamięciowych (zapamiętywanie cyfr od końca i wrywkowe sprawdzanie) była dodatnio skorelowana (P < 0,05) z koncentracją witaminy B₆ w osoczu [50]. Ortega i wsp. [43] uzyskali dodatnią korelację pomiędzy spożyciem kwasu foliowego a aktywnością umysłową, ale nie spożyciem witamin B₆ i B₁₂. W badaniach SENECA (Survey in Europe on Nutrition and the Elderly – a Concerted Action) [19] uzyskano istotną (P < 0,01), ale słabą korelację pomiędzy poziomem kwasu foliowego i witaminy B₁₂ w osoczu a lepszą wydajnością umysłową. Podobne wyniki były także

publikowane przez wcześniejszych badaczy [54]. Dowody na definitywną rolę witamin z grupy B na sprawność umysłową osób starszych pozostają jednak nadal w sferze badań [17].

Witaminy przeciwutleniające

Obniżaniu sprawności umysłowej można zapobiegać lub znacznie opóźnić wystąpienie objawów, poprzez zwiększone pobieranie z żywnością przeciwutleniaczy, takich jak witamina C, E i β -karoten [24, 30]. Pogląd ten bazuje na różnych dowodach. Przykładowo, badania biochemiczne i psychologiczne dowodzą, iż uszkodzenia centralnego systemu nerwowego spowodowane utleniaczami są przyczyną chorób neurodegeneratywnych, takich jak choroba Alzheimera [48, 62], a oksydacyjna modyfikacja lipoprotein frakcji LDL stanowi krytyczny czynnik procesu aterosklerozy [15, 65]. Witamina E, oprócz pełnionej funkcji przeciwutleniającej, może dodatkowo ograniczać rozwój aterosklerozy poprzez wpływ na funkcjonowanie układu immunologicznego [39]. Poziom witaminy E we krwi dodatnio koreluje z funkcjonowaniem pamięci [45]. Wykazano również, że suplementacja diety witaminą E była istotnym czynnikiem opóźniającym rozwój choroby Alzheimera [41, 55]. Bezpośrednie badania epidemiologiczne ukazały widoczny związek pomiędzy poziomem w osoczu (lub spożyciem) przeciwutleniaczy i aktywnością umysłową osób starszych [52]. Gale i wsp. [16] wykazali np. korelacje pomiędzy niskim spożyciem witaminy C i jednocześnie niskim poziomem tej witaminy w osoczu a zwiększonym ryzykiem występowania ischemii i obniżania sprawności umysłowej. Autorzy ci podkreślili, że zmiany poziomu witaminy C we krwi mogą wpłynąć na funkcjonowanie umysłu wśród osób starszych poprzez wpływ na aterogenezę. W innych podobnych badaniach wykazano istotną korelację ($P < 0,05$) pomiędzy około dziesięcioma składnikami diety a wydajnością umysłową. Spośród badanych zmiennych, spożycie witaminy C, β -karotenu, kwasu foliowego i żelaza korelowało dodatnio, a spożycie jednonienasyconych kwasów tłuszczowych, nasyconych kwasów tłuszczowych i cholesterolu ujemnie [28, 43]. Z kolei Kalmijn [24] nie wykazał istotnej zależności pomiędzy spożyciem przeciwutleniaczy, tj. witaminy C, E, β -karotenu i flawonoidów a aktywnością umysłową osób starszych. Podobne rezultaty uzyskano w Projekcie Rotterdamskim; jedyną istotną korelację ($P = 0,04$) wykazano pomiędzy zmniejszonym spożyciem β -karotenu a obniżeniem funkcji postrzegania [21].

W projekcie SENECA wykazano istotną, chociaż słabą korelację pomiędzy poziomem witaminy E ($P < 0,001$) i poziomem karotenoidów w osoczu ($P < 0,01$) a wynikami MMSE (Mini-Mental State Examination) [19]. W innych badaniach udowodniono, że niski poziom karotenoidów w osoczu był skorelowany ze słabą wydajnością umysłową [8]. Jednakże w badaniach dużej, wieloetnicznej populacji starszych mieszkańców USA, jedynie poziom witaminy E w surowicy krwi istotnie

wpływał na wydajność umysłową ($P = 0,025$), natomiast w przypadku witamin A, C, β -karotenu i selenu takiej korelacji nie stwierdzono [45]. Smith i wsp. [58, 59] przeprowadzili 12-miesięczne (oparte na zasadzie losowości, wykorzystujące metodę podawania placebo) badanie uzupełniania diety osób starszych (w wieku 60–80 lat) witaminami przeciwutleniającymi (witamina C, E i β -karoten). W większości przypadków nie zaobserwowali oni żadnych widocznych efektów takiej suplementacji diety na nastrój lub funkcjonowanie umysłowe. Widoczne dodatnie korelacje ($P < 0,05$ – $P < 0,01$) stwierdzono jedynie pomiędzy zmianami poziomu kwasu askorbinowego w osoczu i zmianami nastroju a także zmianami niektórych elementów funkcjonowania umysłowego, tj. wydajności pamięci i koncentracji uwagi. Jednakże takie wyniki uzyskiwali głównie uczestnicy badań charakteryzujący się złym początkowym samopoczuciem oraz niską aktywnością umysłową i były niezależne od tego, do której grupy (pobierającej placebo czy witaminy) ci badani należeli. Zasygnalizowane wcześniej wyniki korzystnego wpływu witaminy E na funkcjonowanie pamięci [45] i hamowanie rozwoju choroby Alzheimera [41, 55] uzyskiwano stosując bardzo wysokie dawki witaminy E (ponad 100-krotnie przekraczające rekomendowane normy amerykańskie), natomiast wpływ dawek wynikających ze zwyczajowego sposobu żywienia pozostaje nadal niewyjaśniony. Dotychczasowe rezultaty w tej dziedzinie zainicjowały więc kolejne cykle badań [17].

Cholina

W organizmie człowieka cholina występuje głównie w fosfolipidach, takich jak lecytyna (fosfatydylocholina) i sfingomielina. Lecytyna stanowi ponad 50% fosfolipidów pełniących ważną rolę w funkcjonowaniu błon komórkowych, m.in. komórek nerwowych, wpływając na ich przepuszczalność. Sfingomielina stanowi główny składnik mieliny [68].

Prekursory neurotransmiterów obecne w diecie mogą prowadzić do zwiększenia poziomu neurotransmiterów w mózgu [5]. Cholina jest prekursorem acetylocholin, transmitera występującego w pęcherzykach synaptycznych i przenoszącego pobudzenie między niektórymi neuronami w ośrodkowym układzie nerwowym. Acetylocholina pobudza komórki rdzenia nadnerczy do wydzielania amin katecholowych: dopaminy, noradrenaliny i adrenaliny. Aminy te stymulują centralny układ nerwowy, wpływając na zwiększenie wydolności psychofizycznej, poprawę pamięci, zdolności koncentracji, poprawę refleksu i łagodzenie stanów depresyjnych. Jednak nadmierna i przewlekła sekrecja tych neuroprzekaźników może przyczynić się do wystąpienia objawów stresu [63]. W badaniach na zwierzętach uzyskano znaczne zwiększenie wydajności umysłowej poprzez podawanie posiłków wzbogaconych choliną [5]. Poprawę procesów pamięciowych wskutek zwiększenia w osoczu stężenia choliny obserwuje się zwłaszcza u ludzi młodych i w średnim wieku. Jednak wśród

ludzi starszych (u których występują problemy z pamięcią) rezultaty były niezadowolające. W 17 doświadczeniach, w których stosowano cholinę lub lecytynę (jako główne źródło choliny w diecie) tylko w jednym uzyskano poprawę pamięci badanych [4].

Alkohol

Alkohol wywołuje bezpośredni wpływ na funkcjonowanie centralnego układu nerwowego i aktywność umysłową. Zmniejsza wydajność funkcji psychomotorycznych, percepcji i uwagi [20]. W małych dawkach (10-25 g czystego alkoholu na dobę) łagodzi on objawy zmęczenia i poprawia nastrój. Nadużywanie alkoholu (związane z dysforią) może być przyczyną niedostatku tryptofanu w osoczu, prekursora serotoniny [5]. Adams i wsp. [1] zasugerowali, że nadużywanie alkoholu może być rezultatem złego funkcjonowania układu serotoninoergicznego. Badacze ci bazowali na hipotezie, że alkohol w odpowiednich ilościach może naśladować główne cechy i efekty działania serotoniny. Chociaż jest to spekulacja, to wpływ etanolu na oddziaływanie serotoniny i stany depresyjne powinien podlegać dalszym badaniom.

Kofeina

Podobnie jak alkohol, kofeina oddziałuje na funkcje centralnego układu nerwowego. Potencjalna toksyczność kofeiny została dokładnie przebadana. Typowa filiżanka kawy zawiera od 70 do 140 mg kofeiny. Dla osoby ważącej 70 kg oznacza to pobranie 1–2 mg kofeiny/kg masy ciała, co odpowiada 1–2 µg/ml osocza. Oddziaływanie kofeiny na organizm różni się w zależności od tego, czy dana osoba spożywa ją nałogowo czy też nie. Zależy też od czasu spożywania kofeiny, tj. czy dana dawka jest wypijana w krótkim czasie, czy też w trakcie całego dnia. Dowody wskazują, że koncentracja w osoczu poniżej 20 µg/ml nie wykazuje trujących czy niekorzystnych efektów nawet wśród noworodków. Zatem, dla osób dorosłych spożycie 250 mg kofeiny/dobę (około 2,5 filiżanki kawy), a nawet 350 mg/dobę i 500 mg/dobę powinno stanowić dawkę bezpieczną i nie wywoływać efektów ubocznych. Ostre toksyczne objawy pojawiają się, kiedy koncentracja w osoczu osiąga 30–50 µg/ml [5].

Kofeina jest postrzegana jako psychostymulant [22, 42]. Jak można było oczekiwać, w większości badań wykazano, że spożycie kofeiny w odpowiednich ilościach prowadzi do polepszenia wydajności psychofizycznej, a w szczególności czasu reakcji, i pamięci [5]. Zasugerowano, że kofeina posiada podobne do choliny właściwości zwiększania zdolności postrzegania. Jarvis [23] wykazał zwiększoną zdolność do zapamiętywania słów wśród osób spożywających kawę w dużych ilościach, podczas gdy Mitchell i Redman [40] udowodnili, że osoby pijące dużo kawy

mają gorszą wydajność psychofizyczną od osób pijących jej mało. Rogers i wsp. [53] stwierdzili, że kofeina wpływa na wydajność umysłu, w zadaniu dotyczącym badania czasu reakcji, ale tylko wśród osób spożywających zwyczajowo dużo kawy. Inne podgrupy badanych, wysoko lub nisko impulsywne, reagują w zróżnicowany sposób na kofeinę. Anderson i Revelle [3] wykazali, że ludzie bardzo impulsywni zwiększają wydajność umysłową po spożyciu kofeiny, natomiast wydajność osób nieimpulsywnych spada.

W godzinach porannych, gdy stan pobudzenia osób impulsywnych jest niski, efekty działania kofeiny są lepsze. Smith i wsp. [60] uzyskali podobne rezultaty, ale w ich badaniach ludzie impulsywni byli tak samo podatni na kofeinę rano, jak i po południu.

Po podaniu większych dawek, kofeina u niektórych wrażliwych badanych wywołuje uczucie niepokoju. Wśród wielu regularnych konsumentów kofeiny zaprzestanie jej konsumpcji powoduje niekorzystne zmiany, takie jak: bóle głowy, senność, zmęczenie [57]. Richardson i wsp. [49] wskazali na dwa rodzaje efektów, które pojawiają się po odstawieniu kofeiny. Po całonocnym (13 godzinnym) braku kofeiny u badanych istotnie wzrosło zmęczenie i senność, a także uczucie złości i przygnębienia. Po przerwie w przyjmowaniu kofeiny trwającej 13 godzin lub 7 dni badani skarżyli się na pogorszenie nastroju i bóle głowy. W innych badaniach wykazano, że symptomy zwiększonego zmęczenia, senności, złości i przygnębienia występowały wśród badanych po okresie snu lub po 24-godzinnym okresie niespożywania kofeiny, ale nie po dłuższych okresach przerwy. Określenie czy rezultaty obserwowane po całonocnym niespożywaniu kofeiny wynikają z dodatnich wpływów kofeiny, czy też z negatywnych konsekwencji krótkoterminowej przerwy w jej spożyciu, wydaje się trudne [53]. Sprawdzenie długoterminowych efektów nałogowego spożywania kawy, w szczególności na nadciśnienie i osteoporozę, wymaga większej liczby badań [5].

Odżywianie i poziom endorfin

Endorfiny, to substancje białkowe o charakterze hormonów, które wiążą się z receptorami błony komórkowej w przypadku morfiny i innych opiatów. Modyfikują one przekazywanie bodźców bólowych, działając przeciwbólowo, podobnie jak morfina [63].

Spożywanie posiłków może przyczynić się do zmian nastroju poprzez ich wpływ na aktywację pewnych uśmierzających reakcji w centralnym układzie nerwowym, a w konsekwencji redukcję odczuwania bólu. Matsumura i wsp. [34] wykazali, że przyjmowanie przez badanych lekkich posiłków i pobudzenie funkcji żołądkowych było związane ze zwiększeniem w osoczu poziomu endogennych substancji uśmierzających ból, tj. β -endorfin. Informacje na temat wpływu posiłków na poziom endorfin w dotychczasowej, cytowanej poniżej literaturze są nieco sprzeczne. W kilku eksperymentach na szczurach wykazano, że podanie cukru zatrzymuje okazywane

wcześniej przygnębie, co sugeruje uspokajający, pozytywny wpływ sacharozy [9, 10], podczas gdy Dum i wsp. [14] stwierdzili, że podanie szczurom mleka czekoladowego prawdopodobnie zwiększyło aktywność uśmierzających β -endorfin, co stwierdzono na podstawie zmian w ich zachowaniu.

Zmniejszanie wrażliwości na ból wśród szczurów po przyjęciu posiłku wykazano w doświadczeniach McGivena i Bernstona [36]. Jednakże w innych badaniach, u szczurów mających stały dostęp do roztworu sacharozy, zauważono bardziej nadwrażliwość niż niedowrażliwość na stymulację bólu [51]. Szczury otyłe są bardziej odporne na ból niż należące do grupy kontrolnej, co wskazuje na wyższy u nich poziom endogennych substancji uśmierzających [46].

Melchior i wsp. [37] nie wykazali zwiększenia poziomu β -endorfin po spożyciu smacznych posiłków przez badanych ludzi. W innych badaniach, kobiety spożywające smaczne posiłki były bardziej odporne na ból, w porównaniu z tymi, które spożywały posiłki niesmaczne [38]. Wysoki poziom β -endorfin został natomiast stwierdzony u pacjentów z anoreksją [26].

Podsumowanie

Obecne w żywności przeciwutleniacze, takie jak witamina C, E, β -karoten mogą zapobiegać lub znacznie opóźnić wystąpienie spadku aktywności umysłowej, szczególnie u osób starszych. Odpowiedni poziom wymienionych witamin we krwi zapobiega oksydacyjnym uszkodzeniom centralnego systemu nerwowego, utleniającej modyfikacji lipoprotein frakcji LDL i procesowi aterosklerozy. Witamina E może dodatkowo ograniczyć rozwój aterosklerozy poprzez wpływ na funkcjonowanie układu immunologicznego. Witaminy z grupy B uczestniczą w funkcjonowaniu centralnego i peryferyjnego układu nerwowego. Skutkiem braku witaminy B₆, B₁₂ i kwasu foliowego są zaburzenia w metabolizmie homocysteiny, niezależnego czynnika rozwoju chorób sercowo-naczyniowych. Cholina jest prekursorem neurotransmitera acetylocholin, pobudzającej komórki rdzenia nadnerczy do wydzielania amin katecholowych. Alkohol, podobnie jak kofeina wywołuje bezpośredni wpływ na funkcjonowanie ośrodkowego układu nerwowego. W małych dawkach zmniejsza objawy zmęczenia i poprawia nastrój, większe dawki powodują obniżenie sprawności psychomotorycznej. Nadużywanie alkoholu może skutkować zaburzeniami funkcji układu serotoninoergicznego. Wpływ kofeiny na aktywność psychofizyczną zależy od ilości pobranej. Spożywanie określonych posiłków może przyczynić się do zwiększenia w osoczu poziomu β -endorfin, endogennych substancji uśmierzających ból.

Przedstawiony przegląd literatury dowodzi, że wyniki oddziaływania składników żywności na funkcje psychofizyczne człowieka nie są jednoznaczne i w związku z tym wymagają ciągłej weryfikacji.

Literatura

- [1] Adams W.R., Kiefer S.W., Badia-Elder N.: Tryptophan deficiency and alcohol consumption in rats as a model for disadvantaged human populations: a preliminary study. *Med. Anthropolog.*, 1995, **16**, 175-191.
- [2] Alpert J.E., Fava M.: Nutrition and depression: The role of folate. *Nutr. Rev.*, 1997, **55**, 145-149.
- [3] Anderson K.J., Ravelle W.: Impulsivity, caffeine and proof-reading: a test the Easterbrook hypothesis. *J. Exp. Psychol.: Human Perception Performance*, 1982, **8**, 614-624.
- [4] Bartus R.T., Dean R.L., Beer B., Lippa A.S.: The cholinergic hypothesis of geriatric memory dysfunction. *Science*, 1982, **216**, 408-417.
- [5] Bellisle F., Blundell J.E., Dye L., Fantino M., Fern E., Fletcher R.J., Lambert J., Roberfroid M., Specter S., Westenhofer J., Westerterp-Plantenga M.S.: Functional food science and behavior, and psychological functions. *Br. J. Nutr.*, 1998, **80 Suppl. 1**, 173-193.
- [6] Bell I.R., Edman J.S., Miller J., Hebben N., Linn R.T., Ray D., Kayne H.L.: Relationship of normal serum vitamin B₁₂ and folate levels to cognitive test performance in subtypes of geriatric major depression. *J. Geriatr. Psych. Neurol.*, 1990, **3**, 98-105.
- [7] Bell I.R., Edman J.S., Selhub J., Morrow F.D., Marby D.W., Kayne H.L., Cole J.O.: Plasma homocysteine in vascular disease and in nonvascular dementia of depressed elderly people. *Acta Psychiatrica Scand.*, 1992, **86**, 386-390.
- [8] Berr C., Richard M.J., Roussel A.M., Bonithon-Kopp C.: Systemic oxidative stress and cognitive performance in the population-based EVA study. *Free Rad. Biol. Med.*, 1998, **24**, 1202-1208.
- [9] Blass E., Fitzgerald E., Kehoe P.: Interactions between sucrose, pain and isolation distress. *Pharmacol. Bioch. Behavior*, 1987, **26**, 483-489.
- [10] Blass E., Fitzgerald E.: Milk-induced analgesia and comforting in 10-day-old rats: opioid mediation. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, 1988, **29**, 9-13.
- [11] Chome J., Paul T., Pudal V., Bleyl J., Hesker H., Huppe R., Kubleer W.: Effects of sub-optimal vitamin status on behavior. *Bibliotheca Nutritio et Dieta*, 1986, **38**, 94-103.
- [12] Clarke R., Daly L., Robinson K., Naughten E., Cahalane S., Fowler B., Graham I.: Hyperhomocysteinemia: An independent risk factor for vascular disease. *New Eng. J. Med.*, 1991, **324**, 1149-1155.
- [13] Deijen J.B., van der Beek E.J., Orlebeke J.F., van der Berg H.: Vitamin B-6 supplementation in elderly men: effects on mood, memory and mental effort. *Psychopharmacology*, 1992, **109**, 489-496.
- [14] Dum J., Gramsch C., Ferz A.: Activation of hypothalamic β -endorphin pools by reward induced by highly palatable food. *Pharmacol., Bioch. Behavior*, 1983, **18**, 443-447.
- [15] Frei B., Keaney J.F., Retsky K.L., Chen K.: Vitamins C and E and LDL oxidation. *Vitamins and Hormones*, 1996, **52**, 1-34.
- [16] Gale C.R., Martyn C.R., Cooper C.: Cognitive impairment and mortality in a cohort of elderly people. *Br. Med. J.*, 1996, **312**, 608-611.
- [17] Gibson L.E., Green M.W.: Nutritional influences on cognitive function: mechanisms of susceptibility. *Nutr. Res. Rev.*, 2002, **15**, 169-206.
- [18] Godfrey P.S.A., Toone B.K., Carney M.W.P., Flynn T.G., Bottiglieri T., Laundry M., Chanarin I., Reynolds E.H.: Enhancement of recovery from psychiatric illness by methylfolate. *Lancet*, 1990, **336**, 392-395.

- [19] Haller J., Waggemans R.M., Ferry M., Guigoz Y.: Mental health: mini-mental state examination and geriatric depression scores for elderly Europeans in the SENECA study of 1993. *Eur. J. Clin. Nutr.*, 1996, **50** Suppl. 2, S112-S116.
- [20] Hindmarch I., Kerr J.S., Sherwood N.: The effects of alcohol and other drugs on psychomotor performance and cognitive function. *Alcohol and Alcoholism*, 1991, **26**, 71-79.
- [21] Jama J.W., Launer L.J., Witterman J.C.M., denBreeijen J.H., Breteler M.M.B., Grobbee D.E., Hofman A.: Dietary antioxidants and cognitive function in a population-based sample of elder persons: The Rotterdam Study. *Am. J. Epidemiol.*, 1996, **144**, 275-280.
- [22] James J.E.: *Caffeine and Health*. London: Academic Press 1991.
- [23] Jarvis M.J.: Does caffeine intake enhance absolute levels of cognitive performance? *Psychopharmacology*, 1993, **110**, 45-52.
- [24] Kalmijn S., Feskens E.J.M., Launer L.J., Kromhout D.: Polyunsaturated fatty acids, antioxidants, and cognitive function in very old men. *Am. J. Epidemiol.*, 1997, **145**, 33-41.
- [25] Kalmijn S., Launer L.J., Lindemans J., Bots M.L., Hofman A., Breteler M.M.B.: Total homocysteine and cognitive decline in a community-based sample of elderly subjects: The Rotterdam Study. *Am. J. Epidemiol.*, 1999, **150**, 283-289.
- [26] Kaye W.H., Pickar D., Naber D., Ebert M.H.: Cerebrospinal fluid opioid activity in anorexia nervosa. *Psychiatry*, 1982, **139**, 643-645.
- [27] Koehler K.M., Romero I.J., Stauber P.M., Pareotubbeh S.L., Liang H.C., Baumgartner R.N., Garry P.J., Allen R.H., Stabler S.P.: Vitamin supplementation and other variables affecting serum homocysteine and methylmalonic acid concentrations in elderly men and women. *J. Am. College Nutr.*, 1996, **15**, 363-376.
- [28] La Rue A., Koehler K., Wayne S.J., Chiulli S.J., Haaland K.Y., Garry P.J.: Nutritional status and cognitive functioning in a normally aging sample: a 6-y reassessment. *Am. J. Clin. Nutr.*, 1997, **65**, 20-29.
- [29] Lehmann M., Gottfries C.G., Regland B.: Identification of cognitive impairment in the elderly: Homocysteine is an early marker. *Dementia and Geriatric Cognitive Disorders*, 1999, **10**, 12-20.
- [30] Lethem R., Orrell M.: Antioxidants and dementia. *Lancet*, 1997, **349**, 1189-1190.
- [31] Lindenbaum J., Heaton E.B., Savage D.G., Brust J.C., Garrett T.J., Podell E.R., Marcel P.D., Stabler S.P., Allen R.H.: Neuropsychiatric disorders caused by cobalamin deficiency in the absence of anemia or macrocytosis. *New Eng. J. Med.*, 1988, **318**, 1720-1728.
- [32] Linder M.C.: *Nutritional Biochemistry and Metabolism: With Clinical Applications*, 2nd ed. Norwalk, CT: Appleton and Lange, 1991.
- [33] Lussier-Cacan S., Xhingnesse M., Piolot A., Selhub J., Davignon J., Genest J.: Plasma total homocysteine in healthy subjects: Sex specific relation with biological traits. *Am. J. Clin. Nutr.*, 1996, **64**, 587-593.
- [34] Matsumura M., Fukuda N., Saito S., Mori H.: Effect of a test meal, duodenal acidification, and tetragastrin on the plasma concentration of β -endorphin-like immune reactivity in man. *Regulatory Peptides*, 1982, **4**, 173-181.
- [35] McCaddon A., Davies G., Hudson P., Tandy S., Cattell H.: Total serum homocysteine in senile dementia of the Alzheimer type. *International J. Geriatr. Psych.*, 1998, **13**, 235-239.
- [36] McGivern R.F., Berntson G.G.: Mediation of diurnal fluctuations in pain sensitivity in the rat by food intake patterns: reversal by naloxone. *Science*, 1980, **210**, 210-211.
- [37] Melchior J.C., Fantino M., Colas-Linhart N., Rigaut D., Petiet A., Laforest M.D., Fumeron F., Apfelbaum M.: Lack of plasmatic beta-endorphin response to a gastronomic meal in healthy humans. *Physiol. and Behavior*, 1991, **49**, 1217-1221.

- [38] Mercer M.E., Holder M.D.: Antinociceptive effects of palatable sweet ingesta on human responses to pressure pain. *Physiol. and Behavior*, 1997, **61**, 311-318.
- [39] Meydani M.: Nutrition, immune cells, and atherosclerosis. *Nutr. Rev.*, 1998, **56**, S177-S182.
- [40] Mitchell P.J., Redman J.R.: Effects of caffeine, time of day and user history on study-related performance. *Psychopharmacology*, 1992, **109**, 121-126.
- [41] Morris M.C., Beckett L.A., Scherr P.A., Hebert L.E., Bennet D.A., Field T.S., Evans D.A.: Vitamin E and vitamin C supplement use and risk of incident Alzheimer disease. *Alzheimer disease and Associated Disorders*, 1998, **12**, 121-126.
- [42] Nehling A., Daval J.L., Debry G.: Caffeine and the central nervous system: mechanisms of action, biochemical, metabolic and psychostimulant effects. *Brain Res. Rev.*, 1992, **17**, 139-170.
- [43] Ortega R.M., Requejo A.M., Andrés P., Lopez-Sobaler A.M., Quintas M.E., Redondo M.R., Navia B., Rivas T.: Dietary intake and cognitive function in a group of elderly people. *Am. J. Clin. Nutr.*, 1997, **66**, 803-809.
- [44] Ortega R.M., Requejo A.M., Lopez-Sobaler A.M., Andres P., Navia B., Perea J.M., Robles F. Cognitive function in elderly people is influenced by vitamin E status. *American Society for Nutritional Sciences.*, 2002.
- [45] Perkins A.J., Hendrie H.C., Callahan C.M., Gao S., Unverzagt F.W., Xu Y., Hall K.S., Hui S.L.: Association of antioxidants with memory in a multiethnic elderly sample using the third National Health and nutrition Examination Survey. *Am. J. Epidemiol.*, 1999, **150**, 37-44.
- [46] Ramzan I., Wong B.E., Corcoran G.B.: Pain sensitivity in dietary-induced obese rats. *Physiol. and Behavior*, 1993, **54**, 433-435.
- [47] Rao R.: Cerebrovascular disease and later life depression: an age old association revisited. *Inter. J. Geriatr. Psych.*, 2000, **15**, 419-433.
- [48] Richardson J.S.: Free radicals in the genesis of Alzheimer's disease. *An. New York Acad. Sci.*, 1993, **695**, 73-76.
- [49] Richardson N.J., Rogers P.J., Elliman N.A., O'Dell R.J.: Mood and performance effects of caffeine in relation to acute and chronic caffeine deprivation. *Pharmacol., Bioch. Behavior*, 1995, **52**, 313-320.
- [50] Riggs K.M., Spiro A., Tucker K., Rush D.: Relations of vitamin B-12, vitamin B-6, folate and homocysteine to cognitive performance in the Normative Aging Study. *Am. J. Clin. Nutr.*, 1996, **63**, 306-314.
- [51] Roane D.S., Martin R.J.: Continuous sucrose feeding decreases pain threshold and increases morphine potency. *Pharmacol., Bioch. Behavior*, 1990, **35**, 225-229.
- [52] Rogers P. J. A Healthy body, a healthy mind: long-term impact of diet on mood and cognitive function. *Proc. Nutr. Soc.*, 2001, **60**, 135-143.
- [53] Rogers P.J., Richardson N.J., DERNONCOURT C.: Caffeine use: is there a net benefit for mood and psychomotor performance? *Neuropsychobiology*, 1995, **31**, 195-199.
- [54] Rosenberg I.R., Miller J.W.: Nutritional factors in physical and cognitive functions of elderly people. *Am. J. Clin. Nutr.*, 1992, **55**, 1237S-1243S.
- [55] Sano M., Ernesto C., Thomas R.G., Klauber M.R., Schafer K., Grundman M., Woodbury P., Growden J., Cotman C.W., Pfeiffer E., Schneider L.S., Thal L.J.: A controlled trial of selegiline, alpha-tocopherol, or both as treatment for Alzheimer's disease. *New Eng. J. Med.*, 1997, **336**, 1216-1222.
- [56] Selhub J., Jaques P.F., Wilson P.W.F., Rush D., Rosenberg I.H.: Vitamin status and intake as primary determinants of homocysteinemia in an elderly population. *J. Am. Med. Assoc.*, 1993, **270**, 2693-2698.
- [57] Silverman K., Evans S.M., Strain E.C., Griffiths R.R.: Withdrawal syndrome after double blind cessation of caffeine consumption. *New Eng. J. Med.*, 1992, **327**, 1109-1114.

- [58] Smith A., Clark R., Nutt D., Haller J., Hayward S., Perry K.: Anti-oxidant vitamins and mental performance of the elderly. *Hum. Psychopharmacol. Clin. Exp.*, 1999, **44**, 459-471.
- [59] Smith A.P., Clark R.E., Nutt D.J., Haller J.G., Hayward S., Perry K.: Vitamin C, mood and cognitive functioning in the elderly. *Nutr. Neurosci.*, 2000, **2**, 249-256.
- [60] Smith A.P., Rusted J.M., Savory M., Eaton-Williams P., Hall S.R.: The effects of caffeine, impulsivity and time of day on performance, mood, and cardiovascular function. *J. Psychopharmacol.*, 1991, **5**, 120-128.
- [61] Sommer B.R., Wolkowitz O.M.: RBC folic acid levels and cognitive performance in elderly patients: A preliminary report. *Biol. Psych.*, 1988, **24**, 352-354.
- [62] Thomas T., Thomas G., McLendon C., Sutton T., Mullan M.: β -amyloid - mediated vasoactivity and vascular endothelial damage. *Nature*, 1996, **380**, 168-171.
- [63] Traczyk W.Z., Trzebski A. (red.): *Fizjologia człowieka z elementami fizjologii stosowanej i klinicznej*. Wyd. Lek. PZWL, wyd. III, Warszawa 2001.
- [64] Ueland P.M., Refsum H.: Plasma homocysteine: A risk factor for vascular disease: Plasma levels in health, disease, and drug therapy. *J. Labor. Clin. Med.*, 1989, **114**, 472-501.
- [65] Witztum J.L.: The oxidation hypothesis of atherosclerosis. *Lancet*, 1994, **344**, 793-795.
- [66] Woodside J.V., Yarnell J.W.G., McMaster D., Young I.S., Harmon D.L., McCrum E.E., Patterson C.C., Grey K.F., Whitehead A.S., Evans A.: Effect of B-group vitamins and antioxidant vitamins on hyperhomocysteinemia: a double-blind, randomized, factorial design, controlled trial. *Am. J. Clin. Nutr.*, 1998, **67**, 858-866.
- [67] Young S.N.: The use of diet and dietary components in the study of factors controlling affect in humans: A review. *J. Psych. Neurosci.*, 1993, **18**, 235-244.
- [68] Ziemiański Ś. (red.): *Normy żywienia człowieka, fizjologiczne podstawy*. Wyd. Lek. PZWL, Warszawa 2001.

POTENTIAL IMPACT OF SELECTED NUTRIENTS ON THE HUMAN PSYCHOPHYSICAL ACTIVITY

S u m m a r y

In the paper presented, the authors review the potential impact of selected nutrients on mental activity, as well as the risk of dysphoria, dementia, and depression to occur in people. Evidence was provided that the B-complex and antioxidant vitamins play an important role in the protection against unfavorable changes in blood-vessels, as well as against arteriosclerosis and dementia diseases. It was demonstrated that such substances as choline, alcohol, and caffeine are significantly involved in the functioning of the central nerve system, and that a diet influences the synthesis of β -endorphin, which is a neuro-active substance.

Key words: B-complex vitamins, antioxidant vitamins, choline, alcohol, caffeine, endorphins, mental activity, dysphoria, dementia, depression. ☒

STANISŁAW MLEKO

ŻELOWANIE PREPARATÓW SERWATKOWYCH

Streszczenie

Celem pracy było przebadanie zdolności żelujących kilku produktów serwatkowych: sproszkowanej serwatki i koncentratów białek serwatkowych o zróżnicowanej zawartości białka. Otrzymywano roztwory o różnym stężeniu białka (4, 6, 8 lub 10%), ogrzewano w temp. 25–85°C i chłodzono do 25°C. Badano właściwości reologiczne przy użyciu reometru dynamicznego Haake RS300, notując wartości modułu zachowawczego, modułu stratności i tangensa kąta przesunięcia fazowego. W temp. 85 i 25°C przebadano wpływ częstości drgań sinusoidalnych na wartości modułów. Największy wzrost wartości modułów stwierdzono podczas chłodzenia wszystkich próbek. Zależność modułów od częstości drgań, badana w temp. 25°C, wskazywała na tworzenie się żeli. Spośród przebadanych produktów najlepiej żelującym preparatem był koncentrat białek serwatkowych o zawartości białka i soli mineralnych odpowiednio: 65,3% i 5,9%, co wydaje się najbardziej optymalnym składem.

Słowa kluczowe: białka, serwatka, żel, reologia.

Wstęp

Przemysłowe wykorzystanie metod izolacji białek serwatkowych spowodowało wytworzenie całej gamy koncentratów o zawartości od ok. 35% białek, poprzez 85% aż do izolatów o zawartości nawet 95% białek w s.m. [14]. Żelowanie białek jest jedną z ich najważniejszych właściwości funkcjonalnych [9, 13]. Wymaga ono zajścia dwóch procesów molekularnych: rozfałdowania białek i agregacji [15]. Rozfałdowanie powoduje zwiększenie oddziaływań hydrofobowych pomiędzy cząsteczkami białek. Agregacja zachodzi wówczas, gdy siły przyciągania pomiędzy cząsteczkami są większe niż siły odpychania. Tendencja cząsteczek białek do rozfałdowania i agregacji oraz właściwości powstałych agregatów i żeli zależą od warunków, w jakich znajdują się białka: środowiska jonowego, pH, temperatury, obecności innych substancji: cukrów, tłuszczów, emulgatorów. Poliole, takie jak np. sorbitol, powodują

podwyższanie temperatury żelowania [8]. Powstający żel nadaje produktom właściwą teksturę, zmniejsza synerżę zatrzymując w produkcie cenne składniki pokarmowe. Wiązania warunkujące tworzenie się żelu, w specyficznych warunkach, mogą przyczyniać się do powstawania roztworów białek serwatkowych o wysokiej lepkości, które również mogą być czynnikiem kształtującym właściwości reologiczne produktów żywnościowych [5]. Skład chemiczny produktów serwatkowych determinuje właściwości reologiczne otrzymywanych żeli. Izolaty białek serwatkowych zawierają zazwyczaj za mało soli mineralnych, aby w roztworach o niskich stężeniach białek nastąpiło żelowanie [16]. W takich przypadkach indukuje się żelowanie przez dodatek soli zarówno przed ogrzewaniem, jak i po nim [10]. Innym sposobem jest zwiększenie agregacji wstępnie ogrzewanych białek przez przesunięcie pH roztworu dyspergowanego w kierunku punktu izoelektrycznego [12]. Żele powstające w specyficznych warunkach mogą odbudowywać swoją strukturę po ustaniu działania sił ścinających [6, 7]. Różnorodność handlowych białkowych preparatów z serwatki i ich zróżnicowany skład chemiczny skłaniają do dalszych badań nad żelowaniem wodnych zdyspergowanych roztworów, albowiem każdy z nich może zachowywać się w specyficzny sposób.

Celem pracy było przebadanie zjawiska żelowania wodnych roztworów kilku komercyjnych preparatów serwatkowych o zróżnicowanej zawartości białka i innych składników. Badania przeprowadzono przy kilku stężeniach białka w roztworze.

Materiał i metody badań

Materiałem do badań były produkty z serwatki:

- sproszkowana serwatka (powdered whey – **PW**) (Spomlek, Radzyn Podlaski),
- koncentrat białek serwatkowych (whey protein concentrate – **WPC**) o zawartości białka ok. 35% – **WPC35** (PPHU – Laktopol, Warszawa),
- koncentrat białek serwatkowych (whey protein concentrate – **WPC**) o zawartości białka ok. 65% – **WPC65** (Milei GmbH, Allgäu, Niemcy),
- koncentrat białek serwatkowych (whey protein concentrate – **WPC**) o zawartości białka ok. 85% – **WPC85** (Lacma sp. z o.o., Nadarzyn).

Skład chemiczny produktów serwatkowych podano w tab. 1.

Sporządzano roztwory preparatów serwatkowych w wodzie destylowanej przez mieszanie przy użyciu mieszadła magnetycznego przez 30 min. Stężenie białka w roztworze wynosiło 4, 6, 8 lub 10%. W przypadku sproszkowanej serwatki nie przebadano prób o 10% stężeniu białka z uwagi na to, że przy tym stężeniu otrzymywano roztwór o mazistej konsystencji. Roztwory umieszczano w reometrze

dynamicznym Haake RS300 (Thermo Haake, Karlsruhe, Niemcy). Stosowano układ cylindrów współosiowych Z-41.

Tabela 1

Skład preparatów serwatkowych [%].
Composition of the whey products [%].

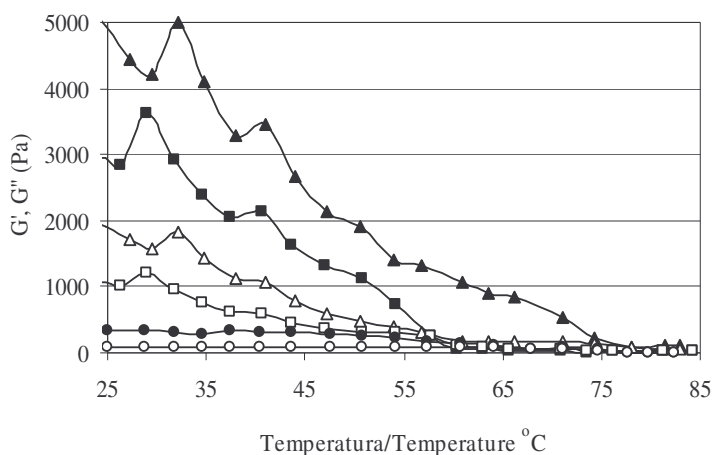
| Produkt Product | Białko Protein | Laktoza Lactose | Tłuszcz Fat | Sole mineralne Minerals | Woda Water |
|--------------------|-------------------|--------------------|----------------|----------------------------|---------------|
| PW | 10,1 | 69,2 | 8,5 | 8,1 | 3,9 |
| WPC35 | 35,5 | 48,5 | 3,7 | 7,7 | 4,5 |
| WPC65 | 65,3 | 19,6 | 4,6 | 5,9 | 4,3 |
| WPC85 | 84,9 | 4,2 | 3,7 | 2,7 | 4,8 |

Po opuszczeniu wrzeczona powierzchnię roztworu zabezpieczano przez nałożenie warstwy oleju roślinnego. Roztwory ogrzewano w zakresie temp.: 25–85°C; w temp. 85°C badano wpływ częstotliwości drgań w zakresie 0,28–10 Hz, następnie próbki chłodzono do 25°C i ponownie w temp. 25°C badano wpływ częstotliwości drgań w zakresie 0,28–10 Hz. Rejestrowano wartości modułu zachowawczego, modułu stratności, kąta przesunięcia fazowego i tangensa kąta stratności przy wielkości odkształcenia 1% i częstotliwości drgań sinusoidalnych 0,1 Hz, stosując program Rhewin 3.92 (Thermo Haake, Karlsruhe, Niemcy). Każda próbka była przebadana w trzech powtórzeniach. Zaprezentowano najbardziej zbliżone i charakterystyczne przebiegi krzywych.

Wyniki badań i dyskusja

Zdyspergowane układy preparatów serwatkowych o zróżnicowanej zawartości białka były ogrzewane w zakresie temp. 25–85°C. Podczas ogrzewania stwierdzono stosunkowo niewielkie zmiany wartości modułu zachowawczego i stratności. Prawdopodobnie jednak rozfałdowanie i agregacja białek, jaka miała miejsce w wysokiej temperaturze, spowodowały, że podczas chłodzenia tych roztworów obserwowano wzrost wartości modułów (rys. 1). Struktura podczas chłodzenia była prawdopodobnie stabilizowana głównie przez wiązania wodorowe [3]. Stężenie białka w roztworze, a tym samym suchej masy, miało zasadniczy wpływ na wartości modułów, przy czym przy 4% zawartości białka otrzymano wartości modułów około dziesięciokrotnie mniejsze od wartości obserwowanych w przypadku wyższych stężeń białka. Świadczy to o tym, że wpływ białka na żelowanie nie ma charakteru liniowego. Wcześniej Mleko i wsp. [11] wykazali, że wpływ ten można wyrazić za pomocą równania wykładniczego. Na rys. 2. przedstawiono zmiany tangensa kąta stratności

obserwowane podczas ogrzewania i chłodzenia roztworu PW o 4% zawartości białka. Jest to więc preparat i warunki, w jakich można się spodziewać najslabszych oddziaływań pomiędzy białkami i również ich słabego żelowania. Tangens kąta stratności wyraża stosunek energii rozproszonej do energii zachowanej podczas odkształcenia oscylacyjnego. Można go wyrazić jako stosunek modułu stratności do modułu zachowawczego. Jego obniżenie świadczy o tym, że mniejsza część energii w czasie odkształcenia została rozproszona w postaci ciepła, tzn., że próbka zachowuje się jak substancja bardziej sprężysta, gdyż energia podczas odkształcenia sprężystego jest zachowywana. Z rys. 2. można odczytać, że podczas ogrzewania zachodziły duże wahania tangensa kąta stratności, a jego wartość „oscylowała” wokół 0,8. Wartości tangensa kąta fazowego zbliżone do jedności świadczą o tym, że substancję można uznać za tak samo lepka jak i sprężystą.

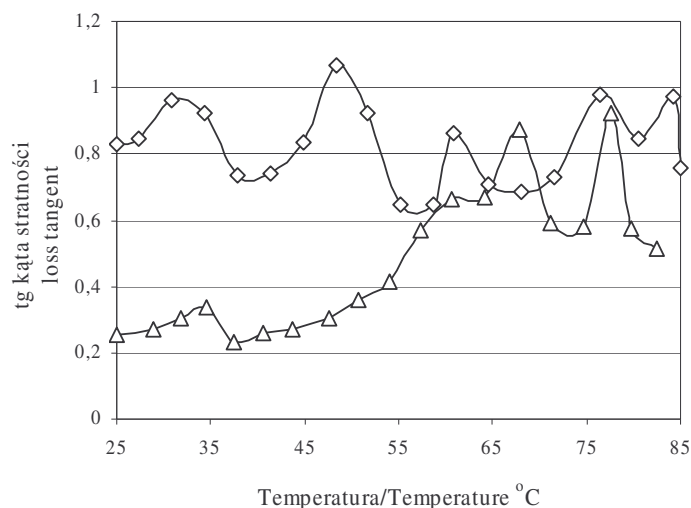


Rys. 1. Zmiany modułu zachowawczego (czarne symbole) i stratności (otwarte symbole) podczas chłodzenia 4% (białka) (o), 6% (□) lub 8% (Δ) roztworu PW z temp. 85 do 25°C, po uprzednim ogrzewaniu w temp. 25 do 85°C (tylko część dotycząca chłodzenia jest zaprezentowana).

Fig. 1. Changes in the storage module (black) and loss module (open) while cooling PW dispersions [4% (o), 6% (□), or 8% (Δ) protein], from 85°C to 25°C after the previous heating from 25°C to 85°C (only the cooling part is shown).

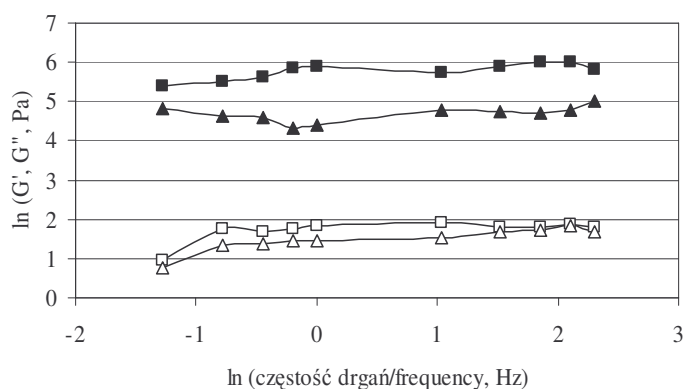
Często tę wartość przyjmuje się za początek żelowania [17]. Podczas chłodzenia próbki zaobserwowano nagły spadek wartości tangensa kąta stratności. Osiągnęła ona wartość około 0,25, co świadczy o tym, że wartość modułu zachowawczego była około czterokrotnie większa od wartości modułu stratności. Substancję powstałą w wyniku ogrzewania i chłodzenia PW można uznać za słaby żel. Potwierdzają to wyniki badań wpływu częstości drgań przeprowadzone w temp. 85 i 25°C (rys. 3). W 85°C wartości modułów były stosunkowo niewielkie i zbliżone, natomiast po ochłodzeniu

obserwowano, że w całym zakresie przebadanej częstotliwości drgań wartość modułu zachowawczego była kilkakrotnie wyższa od wartości modułu stratności. Podobne zachowanie się podczas badania wpływu częstotliwości drgań na wartości modułów stwierdzono we wszystkich pozostałych próbkach.



Rys. 2. Wpływ temperatury na tangens kąta stratności podczas ogrzewania (◇) i chłodzenia (△) 4% (białka) roztworu PW.

Fig. 2. The effect of temperature on the loss tangent while heating (◇) and cooling (△) PW dispersions (4% of protein).

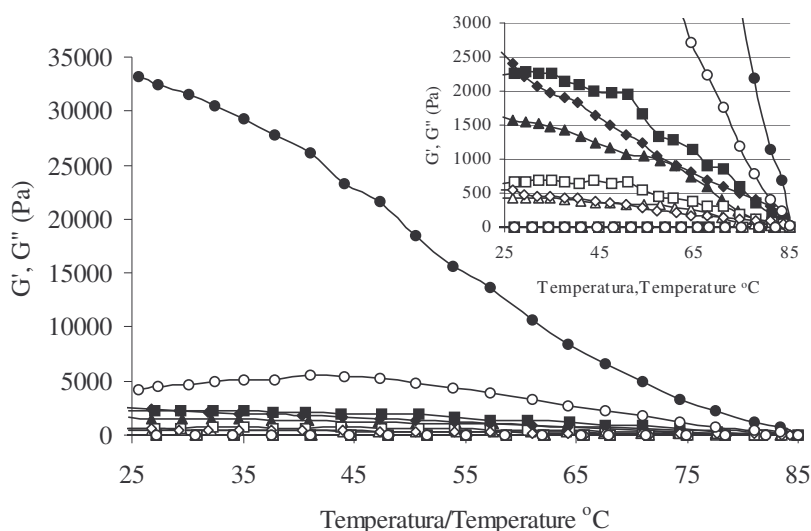


Rys. 3. Wpływ częstotliwości drgań na wartości modułu zachowawczego (□) i stratności (△) w temp. 85°C (otwarte symbole) i po ochłodzeniu do temp. 25°C (czarne symbole) roztworu PW o zawartości białka 4%.

Fig. 3. The effect of frequency on the storage module (□) and loss module (△) of PW dispersion at 85°C (open) and cooled to 25°C (black) (PW dispersions containing 4% of protein).

Wyższa energia drgań związana z wyższą częstotliwością nie powodowała spadku wartości modułu zachowawczego, który miałby miejsce wówczas, gdyby następowało zniszczenie ustrukturuwanej matrycy. Powstała struktura żelu miała więc dość trwały charakter, co przy tak niskim stężeniu białka i tylko 4-krotnie wyższej wartości modułu zachowawczego od modułu stratności, wynikało prawdopodobnie ze stabilizującego wpływu innych składników zawartych w proszku serwatkowym: tłuszczu, laktozy [1].

Na rys. 4–6 przedstawiono reologiczne zachowanie się koncentratów białek serwatkowych o zróżnicowanej zawartości białka podczas ogrzewania i chłodzenia. Ze względu na różnice w składzie (tab. 1), a przede wszystkim wyższą zawartość białka przy dość wysokiej zawartości soli mineralnych, obserwowane maksymalne wartości modułów były większe niż zanotowane w przypadku PW. Analizując próby WPC35 stwierdzono, że z roztworu o 10% zawartości białka otrzymano żele o zdecydowanie wyższej wartości modułów w porównaniu z roztworami o niższych stężeniach białka (rys. 4).

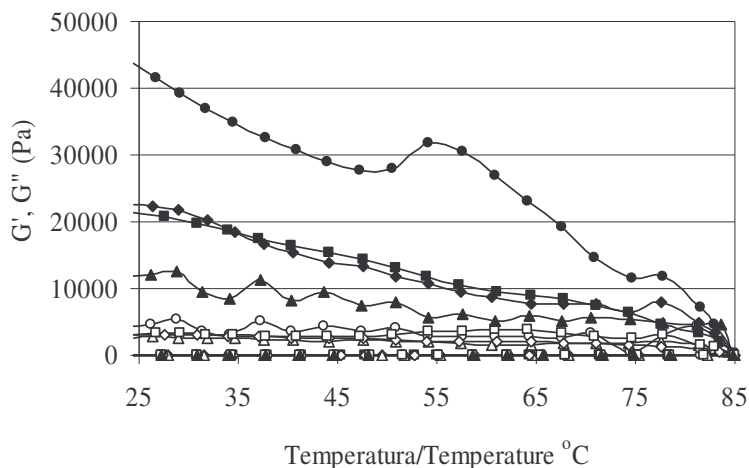


Rys. 4. Zmiany modułu zachowawczego (czarne symbole) i stratności (otwarte symbole) podczas chłodzenia 4% (białka) (Δ), 6% (\diamond), 8% (\square) lub 10% (o) roztworu WPC35 z temp. 85 do 25°C po poprzednim ogrzewaniu w temp. 25 do 85°C.

Fig. 4. Changes in the storage module (black) and loss modulus (open) while cooling WPC35 dispersions from 85°C to 25°C after their previous heating from 25°C to 85°C (WPC35 dispersions containing respectively: 4% (Δ), 6% (\diamond), 8% (\square), or 10% (o) of protein).

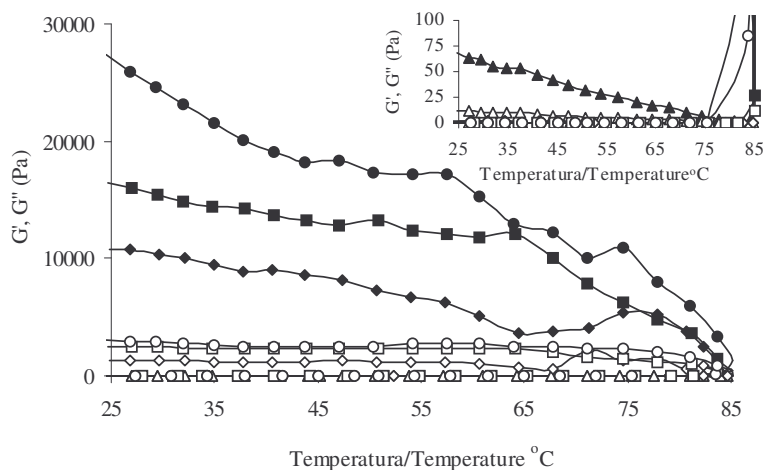
Może to wynikać ze stosunkowo niskiej zawartości białka w koncentracie (35,5%). Żel jest tworem makroskopowych rozmiarów i występuje dość ostra granica, wyrażana minimalnym stężeniem białka potrzebnym do żelowania, czyli osiągnięcia takiego

stanu, kiedy cząsteczki białek połączone między sobą stworzą matrycę zajmującą całą objętość zolu. W przypadku skomplikowanych układów, takich jak roztwory WPC35, może zachodzić również częściowa strukturyzacja za pomocą innych substancji zawartych w koncentracji i ich oddziaływań z białkami [2, 4].



Rys. 5. Zmiany modułu zachowawczego (czarne symbole) i stratności (otwarte symbole) podczas chłodzenia 4% (białka) (Δ), 6% (\diamond), 8% (\square) lub 10% (o) roztworu WPC65 z temp. 85 do 25°C po uprzednim ogrzewaniu w temp. 25 do 85°C.

Fig. 5. Changes in the storage module (black) and loss module (open) while cooling WPC65 dispersions from 85 to 25°C after their previous heating from 25 to 85°C 4% (WPC65 dispersions containing respectively: 4% (Δ), 6% (\diamond), 8% (\square), or 10% (o) of protein).



Rys. 6. Zmiany modułu zachowawczego (czarne symbole) i stratności (otwarte symbole) podczas chłodzenia 4% (białka) (Δ), 6% (\diamond), 8% (\square) lub 10% (o) roztworu WPC85 z temp. 85 do 25°C po uprzednim ogrzewaniu w temp. 25 do 85°C.

Fig. 6. Changes of storage modulus (black) and loss modulus (open) WPC85 dispersions from 85°C to 25°C after their previous heating from 25°C to 85°C 4% (WPC85 dispersions containing respectively: 4% (Δ), 6% (\diamond), 8% (\square), or 10% (o) of protein).

Najwyższe wartości modułów zaobserwowano w przypadku roztworu WPC65. W porównaniu z pozostałymi preparatami, koncentrat ten wydaje się mieć najbardziej optymalny skład chemiczny (tab. 1). Zawiera niezbyt duże ilości laktozy i tłuszczu przy umiarkowanej zawartości soli mineralnych. WPC85, który oczywiście zawiera większą ilość białka, ma tylko 2,7% soli mineralnych. Swoim składem jest już nieco zbliżony do izolatu białek serwatkowych, a te słabo żelują w wodzie destylowanej i standardowo do sporządzania żeli używa się 0,1 M/dm³ NaCl. Różnice pomiędzy tymi dwoma koncentratami: WPC65 i WPC85 są zwłaszcza widoczne przy porównaniu żelowania roztworów o zawartości białka 4%. W przypadku WPC85 wartość modułu zachowawczego osiąga w temp. 25°C około 70 Pa, a w przypadku WPC65 jego wartość przekracza 10 000 Pa.

Wnioski

1. Zróżnicowany skład produktów otrzymywanych z białek serwatkowych wpływa na ich różnorodne zachowanie podczas ogrzewania.
2. Z roztworów suszonej serwatki o niskiej zawartości białka – 4%, otrzymuje się w wyniku ogrzewania słabe żele, przy czym struktura żelowa ulega wzmocnieniu i staje się bardziej sprężysta podczas chłodzenia.
3. Otrzymane wartości modułu zachowawczego świadczą o tym, iż istnieje pewien optymalny skład preparatów białkowych z serwatki, który maksymalizuje właściwości żelujące. Niekoniecznie w perspektywie zastosowań przemysłowych należy dążyć do produkcji izolatów, bądź koncentratów białek serwatkowych o wysokiej zawartości białek przy obniżonej zawartości soli mineralnych. Takie preparaty wymagają skomplikowanego oczyszczenia i są znacznie droższe od koncentratów o niższej zawartości białka, ale optymalnym składzie mineralnym.
4. Spośród przebadanych produktów najlepiej żelującym preparatem był koncentrat białek serwatkowych o zawartości białka i soli mineralnych odpowiednio: 65,3% i 5,9%.

Literatura

- [1] Boye J.I., Alli I., Ismail A.A., Gibbs B.F., Konishi Y.: Factors affecting molecular characteristics of whey protein gelation. *Inter. Dairy J.*, 1995, **5**, 337-353.

- [2] Brandenberg A.H, Morr C.V., Weller C.L.: Gelation of commercial whey protein concentrates: effect of removal of low-molecular-weight components. *J. Food Sci.*, 1992, **57**, 427-432.
- [3] Kavanagh G.M., Ross-Murphy S.B.: Rheological characterization of polymer gels. *Prog. Polym. Sci.*, 1998, **23**, 533-562.
- [4] Mei F.L., Laye I., Karleskind D., Morr C.V.: Gelation of calcium reduced and lipid reduced whey protein concentrates as affected by total and ionic mineral concentrations. *J. Food Sci.*, 1996, **61**, 899-905.
- [5] Mleko S.: Effect of protein concentration on whey protein gels obtained by a two-stage heating. *Eur. Food Res. Technol.*, 1999, **6**, 389-392.
- [6] Mleko S.: Formation of reversible whey protein gels. *Milchwiss.*, 2000, **55**, 390-393.
- [7] Mleko S.: Gelation of shear treated whey protein polymers/aggregates. *J. Food Sci. Tech.*, 2002, **39**, 167-169.
- [8] Mleko S.: Gelation of whey proteins with sorbitol. *Milchwiss.*, 2003, **58**, 403-405.
- [9] Mleko S.: Rheological properties of milk and whey protein desserts. *Milchwiss.*, 1997, **52**, 262-265.
- [10] Mleko S.: Studies on permeability and rheology of heat and sodium induced whey protein gels. *J. Food Sci. Tech.*, 2000, **37**, 307-310.
- [11] Mleko S., Achremowicz B., Foegeding A.: Effect of protein concentration on the rheological properties of whey protein concentrate gels. *Milchwiss.*, 1994, **49**, 266-269.
- [12] Mleko S., Foegeding EA.: pH induced aggregation and weak gel formation of whey protein polymers. *J. Food Sci.*, 2000, **65**, 139-143.
- [13] Mleko S., Gustaw W.: Model whey protein polymer desert. *Milchwiss.*, 2000, **55**, 149-151.
- [14] Mleko S., Janas P., Wang T., Lucey J.A.: Rheological properties of reduced lactose whey dispersions. *Int. J. Dairy Tech.*, 2003, **56**, 157-161.
- [15] Mulvihill D.M, Donovan M.: Whey proteins and their thermal denaturation – a review. *Irish J. Food Sci. Technol.*, 1987, **11**, 43-75.
- [16] Stading M., Langton M., Hermansson A.M.: Microstructure and rheological properties of particulate β -lactoglobulin and whey proteins at varying pH. *Food Hydrocolloids*, 1992, **5**, 523-539.
- [17] Tang Q., McCarthy O.J., Munro P.A.: Oscillatory rheological study of the effects of pH and salts on gel development in heated whey protein concentrate solutions. *J. Dairy Res.*, 1995, **62**, 469-477.

GELATION OF WHEY PRODUCTS

S u m m a r y

The objective of this project was to investigate the gelling ability of several whey products: powdered whey and whey protein concentrates with different protein content. Dispersions of different protein concentration (4, 6, 8 and 10%) were made, heated from a temperature of 25⁰C to 85⁰C, and cooled to 25⁰C. Rheological properties were investigated using a 'Haake RS300' dynamic rheometer in an oscillatory mode. Rheological modules, phase angle, and loss tangent were registered. Frequency sweeps were performed at 85⁰C and 25⁰C. For all investigated products, the storage modules increased when their samples were cooled. The frequency sweep at 25⁰C revealed that gels were formed. The best gelling performance was stated for the whey protein concentrate containing respectively: 65.3% of proteins and 5.9% of mineral salts. Among all investigated products, this particular composition seems to be the most optimal one to enable forming gel.

Key words: protein, whey, WPC gel, rheology. ✎

STANISŁAW MLEKO

OTRZYMYWANIE MIESZANYCH ŻELI BIAŁEK SERWATKOWYCH Z WYBRANYMI POLISACHARYDAMI I BADANIE ICH WŁAŚCIWOŚCI MECHANICZNYCH

Streszczenie

Celem badań było otrzymanie mieszanych żeli białek serwatkowych z karagenem, mączką chleba świętojańskiego, gumą guarową, gumą arabską i gumą ksantanową oraz zbadanie ich właściwości teksturalnych, przy użyciu testu ściskania, do zniszczenia struktury. Stężenie białka wynosiło 15%, a stężenia polisacharydów stanowiły 3, 5, 8, 10, 15 i 20% w stosunku do ilości białka. Roztwory dyspergowane o pH 7,0 ogrzewano w łaźni wodnej o temp. 80°C przez 30 min. W przypadku dodatku gumy ksantanowej oraz arabskiej zaobserwowano spadek wartości naprężenia przy pęknięciu żeli izolatu białek serwatkowych, natomiast mączka chleba świętojańskiego oraz karagen powodowały wzrost twardości żeli. Dodatek polisacharydów, z wyjątkiem karagenu, powodował spadek spójności żeli. W wyższych stężeniach gumy arabskiej i guarowej obserwowano powrót do pierwotnej spójności żeli, w których polisacharydy pełniły prawdopodobnie rolę lepiszcza struktury.

Słowa kluczowe: guma arabska, guma guarowa, guma ksantanowa, karagen, mączka chleba świętojańskiego, serwatka.

Wstęp

Żelowanie białek jest procesem wykorzystywanym powszechnie w przemyśle spożywczym [7]. Potrzeba modyfikacji właściwości reologicznych żeli, jak również złożoność żywności skłania do badań nad mieszanymi żelami, w których często jeden ze składników jest białkiem, a drugi polisacharydem. W mieszaninach takich biopolimerów najczęściej występującym zjawiskiem jest rozdział faz. Obserwuje się tzw. niekompatybilność termodynamiczną. Istnieją wówczas mocniejsze oddziaływania pomiędzy rozpuszczalnikiem a poszczególnymi biopolimerami niż pomiędzy tymi biopolimerami, co prowadzi do powstania niemieszającego się układu i

ostatecznego utworzenia się dwóch faz zawierających tylko poszczególne biopolimery. Innym rodzajem rozdziału faz jest rozdział asocjacyjny. Zachodzi on wówczas, gdy obydwa polimery mają przeciwne ładunki sumaryczne, co prowadzi do tworzenia się kompleksów. Powstałe kompleksy mogą być rozpuszczalne lub ich tworzenie się może doprowadzić do agregacji [3]. Mieszanina białek globularnych, jakimi są białka serwatkowe, i polisacharydowych polimerów, przy odpowiednio dużych stężeniach, również ulega rozdziałowi faz. Przyjmuje się, że rozdział faz następuje przy całkowitym stężeniu polimerów na poziomie 4%, podczas gdy przy stężeniu niższym niż 1% dochodzi do wytrącania się jednego z składników [3]. Często rozdział faz następuje równocześnie z postępującym zjawiskiem żelowania jednego lub dwóch składników. Żelowanie w przypadku białek globularnych zachodzi pod wpływem podwyższonej temperatury, natomiast żelowanie polisacharydów następuje najczęściej po ochłodzeniu podgrzanego roztworu [8, 9]. Powstały żel może makroskopowo wydawać się homogeniczny, natomiast w rzeczywistości następuje w nim rozdział faz. Często polisacharydy wpływają na jeden z etapów żelowania białek. Capron i wsp. [2] stwierdzili przyspieszenie procesu agregacji β -laktoglobuliny w mieszaninie z κ -karagenem.

Celem badań było otrzymanie mieszanych żeli białek serwatkowych z karagenem, mączką chleba świętojańskiego, gumą guarową, gumą arabską i gumą ksantanową oraz zbadanie ich właściwości teksturalnych przy użyciu testu ściskania, do zniszczenia struktury.

Materiał i metody badań

Do badań użyto następujących materiałów:

- izolat białek serwatkowych (whey protein isolate – WPI) o zawartości 93,6% białka (Davisco Foods International, Le Sueur, MN, USA),
- karagen, mączka chleba świętojańskiego, guma guarowa, guma arabska i guma ksantanowa (Hortimex, Konin).

Sporządzano roztwory dyspergowane WPI w $0,1 \text{ mol/dm}^3$ NaCl o stężeniu 15% białka z dodatkiem wybranych polisacharydów. Stężenia polisacharydów wynosiły 3, 5, 8, 10, 15 i 20% w stosunku do ilości białka. Używając 1 M/dm^3 NaOH lub HCl ustalano pH roztworu dyspergowanego na poziomie 7,0. Roztwory wlewano do szklanych rurek o średnicy wewnętrznej 7 mm i długości 80 mm powleczonych cienką warstwą oleju rzepakowego, zamkniętych z jednej strony gumowymi korkami. Wyloty rurek zakrywano folią aluminiową. Roztwory ogrzewano w łaźni wodnej o temp. 80°C przez 30 min. Próbki przetrzymywano w rurekach w temp. 21°C przez 10 min, a następnie przechowywano przez około 20 h w temp. 4°C . Żele wysuwano z rurek i cięto na 6 mm długości cylindry przy użyciu skalpela chirurgicznego. Otrzymane żele

analizowano przy użyciu urządzenia Instron Universal Testing machine (Model 6022, Canton, MA, USA) z głowicą o ciężarze 50 N, przy prędkości przesuwu 50 mm/min. Żele ściskano pomiędzy dwiema równoległymi płytkami pokrytymi cienką warstwą oleju rzepakowego aż do otrzymania pierwszego piksu przy 5% spadku wartości siły. Próbkę analizowano w trzech powtórzeniach po 6 walców w każdym. Żele zostały potraktowane jako nieściśliwe materiały. Względne odkształcenie przy zniszczeniu (ε) podczas ściskania obliczano z równania:

$$\varepsilon = -\ln [1 - (\Delta h/h)],$$

gdzie h – wysokość walca, Δh – wielkość przesunięcia głowicy do zniszczenia próbki.

Naprężenie niszczące przy ściskaniu (σ) obliczano z równania:

$$\sigma = F [(1 - (\Delta h/h))/2\pi r^2],$$

gdzie F – siła powodująca pęknięcie walca, r – początkowy promień walca.

Wartości odchyłek standardowych oraz istotność różnic pomiędzy średnimi obliczano testem t-Studenta na poziomie istotności $P \leq 0,05$, przy użyciu programu Stat 1 (ISK, Skierniewice).

Wyniki badań i dyskusja

Na wstępie przedstawiono wpływ dodatku polisacharydów na naprężenie niszczące podczas ściskania żeli izolatu białek serwatkowych (tab. 1). Żele o stałej konsystencji nadającej się do ściskania otrzymano we wszystkich przypadkach z wyjątkiem żeli z dodatkiem dużej ilości gumy kasantanowej: 10–20% w stosunku do ilości białka. W przypadku dodatku gumy arabskiej i gumy ksantanowej stwierdzono spadek wartości naprężenia; twardość żeli malała wraz ze wzrostem stężenia tych polisacharydów. Bryant i McClements [1] stwierdzili, że mieszanina białek serwatkowych z ksantanem przy pH 7 podlega rozdziałowi faz. W wyniku tego procesu można było zmniejszyć minimalne stężenie białka, przy którym zachodzi żelowanie. Zaobserwowano, iż obecność ksantanu powoduje zwiększenie wielkości agregatów β -laktoglobuliny [13]. Takie synergistyczne zachowanie zaobserwowano przy niskim stężeniu ksantanu, natomiast wyższe stężenia działały antagonistycznie. Ksantan już przy stężeniach większych niż 0,001% powoduje agregacje emulsji zawierających białka serwatkowe, co przypisuje się jego negatywnemu wpływowi na termiczną stabilność białek [5]. Hemar i wsp. [6] stwierdzili, że roztwory kazeiny i gumy kasantanowej nie są homogeniczne. Przy użyciu mikroskopu konfokalnego zaobserwowali obszary o włóknistej strukturze, lokalnie bogate w ksantan. Świadczy to o termodynamicznej niekompatybilności takiej mieszaniny. Obserwowany w niniejszych badaniach spadek wartości naprężenia wynikał prawdopodobnie z faktu, iż rozdział faz z równoczesną zwiększoną agregacją białek serwatkowych doprowadziły do zniszczenia struktury sieci żelu białkowego i osłabienia jego wytrzymałości na ściskanie. Podobne zjawisko ma prawdopodobnie miejsce w przypadku mieszanych

żeli z gumą arabską. W literaturze nie znaleziono doniesień na ten temat. W przypadku żeli z dodatkiem gumy guarowej stwierdzono, iż jej dodatek nie wpływał zasadniczo na wartość naprężenia niszczącego przy ściskaniu żeli. El-Garawany i wsp. [4] zaobserwowali tworzenie się słabszych żeli białek serwatkowych po dodaniu gumy guarowej. Różne zachowanie się żeli wynika prawdopodobnie z różnic w stosowanych stężeniach gumy guarowej. Wyższe jej stężenie mogło wzmacniać matrycę polisacharydową przy jednoczesnym osłabianiu struktury części białkowej żelu.

Tabela 1

Wpływ dodatku polisacharydów na naprężenie niszczące podczas ściskania żeli izolatu białek serwatkowych.

The effect of the polysaccharides on the breaking stress while compressing the WPI gels.

| Polisacharyd Polysaccharide | Naprężenie przy pęknięciu / Compressive stress at fracture [kPa] | | | | | | |
|---|---|-----------------------------|------------------------------|-----------------------------|-----------------------------|------------------------------|-----------------------------|
| | Wielkość dodatku polisacharydu / Quantity of the polysaccharide added [%] | | | | | | |
| | 0 | 3 | 5 | 8 | 10 | 15 | 20 |
| Guma arabska Arabic gum | 48,23 ^d ±0,54 | 46,25 ^d ±0,79 | 44,92 ^d ±1,34 | 40,23 ^c ±0,07 | 39,82 ^c ±3,35 | 19,82 ^b ±3,35 | 15,59 ^a ±1,66 |
| Mączka chleba świętojańskiego Locust bean gum | 48,23 ^a ±0,54 | 48,28 ^a ±4,46 | 52,74 ^b ±2,76 | 56,18 ^b ±3,12 | 61,21 ^c ±0,12 | 66,24 ^d ±0,98 | 76,68 ^e ±1,99 |
| Guma guarowa Guar gum | 48,23 ^{ab} ±0,54 | 44,11 ^a ±0,78 | 47,65 ^{ab} ±2,76 | 43,95 ^a ±4,78 | 51,51 ^b ±3,16 | 47,98 ^{ab} ±0,76 | 50,01 ^b ±3,70 |
| Karagen Carrageenan | 48,23 ^a ±0,54 | 52,79 ^a ±3,98 | 49,86 ^a ±5,76 | 62,00 ^b ±4,76 | 64,88 ^b ±2,55 | 68,54 ^{bc} ±4,12 | 74,79 ^c ±6,99 |
| Guma ksantanowa Xanthan gum | 48,23 ^d ±0,54 | 26,38 ^c ±1,57 | 20,25 ^b ±5,01 | 11,63 ^a ±2,24 | --- | --- | --- |

Różnice pomiędzy wartościami średnimi w wierszach oznaczonymi różnymi literami są statystycznie istotne ($P \leq 0,05$);

The differences among the mean values contained in lines and designated by different letters are statistically significant ($P \leq 0.05$).

Dodatek mączki chleba świętojańskiego powodował wzrost wartości naprężenia (tab. 1). Sanchez i wsp. [11] stwierdzili, iż dodatek mączki chleba świętojańskiego oraz gumy ksantanowej do jogurtu spowodował zmiany w strukturze sieci żelu kazeinowego. Struktura ta była bardziej zwarta, a wielkość porów uległa redukcji. Powstawanie takiej struktury mogło być przyczyną obserwowanych wyższych wartości naprężenia przy zniszczeniu żeli białek serwatkowych z dodatkiem mączki chleba świętojańskiego. Również dodatek karagenu powodował wzrost twardości żeli białek serwatkowych (tab. 1).

Schmidt i Smith [12] zdefiniowali zdolność polisacharydów do tworzenia bardziej lepkich roztworów w mleku niż w wodzie jako reaktywność mleczną (milk reactivity). Podobne zjawisko zaobserwowali również w odniesieniu do roztworów białek serwatkowych z karagenem, gumą guarową oraz ksantanową. Mleko i wsp. [10] stwierdzili, że 3% roztwór białek mleka powoduje wzrost wartości naprężenia przy pęknięciu żeli κ -karagenu. Maksymalną twardość żeli zaobserwowano przy pH 6–7, podczas gdy przy innych wartościach pH następowało bądź tworzenie się kompleksów, bądź silne odpychanie się pomiędzy białkami i κ -karagenem. Euston i wsp. [5] stwierdzili, że karagen ma mniejszy wpływ na agregację białek serwatkowych niż ksantan, natomiast prawdopodobnie oddziałuje z rozfałdowanymi białkami.

W tab. 2. przedstawiono wpływ dodatku gum na wartość względnego odkształcenia przy zniszczeniu podczas ściskania żeli WPI. Wyniki obrazują zmiany spójności żeli. Generalnie dodatek polisacharydów, z wyjątkiem karagenu, powodował spadek spójności żeli. Następujący rozdział faz sprzyjał powstawaniu mniej zwartej struktury żeli. Przy wyższych stężeniach gumy arabskiej i guarowej dochodziło do powrotu do pierwotnej spójności żeli, gdzie polisacharydy pełniły prawdopodobnie rolę lepiszcza struktury. Zaobserwowane wysokie wartości odkształcenia mieszanych żeli WPI-karagen odnotowali wcześniej Mleko i wsp. [10] i mogą one świadczyć o istniejącym synergizmie pomiędzy żelami białek serwatkowych i karagenu.

Tabela 2

Wpływ dodatku polisacharydów na odkształcenie przy zniszczeniu podczas ściskania żeli izolatu białek serwatkowych.

The effect of polysaccharides on the fracture strain while compressing WPI gels.

| Polisacharyd Polysaccharide | Odkształcenie przy pęknięciu / Compressive strain at fracture | | | | | | |
|---|---|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|------------------------------|
| | Wielkość dodatku polisacharydu / Quantity of the polysaccharide added [%] | | | | | | |
| | 0 | 3 | 5 | 8 | 10 | 15 | 20 |
| Guma arabska Arabic gum | 0,90 ^b ±0,01 | 0,70 ^a ±0,09 | 0,73 ^a ±0,08 | 0,69 ^a ±0,08 | 0,69 ^a ±0,08 | 0,93 ^b ±0,01 | 0,96 ^b ±0,02 |
| Mączka chleba świętojańskiego Locust bean gum | 0,90 ^d ±0,01 | 0,87 ^{cd} ±0,05 | 0,83 ^{bc} ±0,01 | 0,82 ^{bc} ±0,01 | 0,82 ^{bc} ±0,02 | 0,78 ^b ±0,03 | 0,65 ^a ±0,08 |
| Guma guarowa Guar gum | 0,90 ^d ±0,01 | 0,86 ^{cd} ±0,04 | 0,79 ^{bc} ±0,06 | 0,72 ^{ab} ±0,07 | 0,68 ^a ±0,06 | 0,78 ^{bc} ±0,05 | 0,81 ^{bcd} ±0,05 |
| Karagen Carrageenan | 0,90 ^a ±0,01 | 0,92 ^{ab} ±0,01 | 0,94 ^{bc} ±0,01 | 0,94 ^{bc} ±0,01 | 0,97 ^{cd} ±0,02 | 0,99 ^d ±0,02 | 1,12 ^e ±0,04 |
| Guma ksantanowa Xanthan gum | 0,90 ^b ±0,01 | 0,75 ^a ±0,07 | 0,69 ^a ±0,05 | 0,72 ^a ±0,04 | --- | --- | --- |

Różnice pomiędzy wartościami średnimi w wierszach, oznaczonymi różnymi literami, są statystycznie istotne ($P \leq 0,05$);

The differences among the mean values contained in individual lines and designated by different letters are statistically significant ($P \leq 0.05$).

Wnioski

1. W przypadku dodatku gumy ksantanowej oraz arabskiej zaobserwowano spadek wartości naprężenia żeli izolatu białek serwatkowych. Wynika on prawdopodobnie z rozdziału faz z równoczesną zwiększoną agregacją białek serwatkowych.
2. Mączka chleba świętojańskiego oraz karagen powodowały wzrost twardości żeli.
3. Dodatek polisacharydów, z wyjątkiem karagenu, powodował spadek spójności żeli.
4. W wyższych stężeniach gumy arabskiej i guarowej dochodziło do powrotu do pierwotnej spójności żeli, gdzie polisacharydy pełniły prawdopodobnie rolę lepiszcza struktury.
5. Wysokie wartości odkształcenia mieszanych żeli białek serwatkowych z karagenem mogą świadczyć o istniejącym synergizmie pomiędzy tymi składnikami.

Literatura

- [1] Bryant C.M., McClements D.J.: Influence of xanthan gum on physical characteristics of heat-denatured whey protein solutions and gels. *Food Hydrocoll.*, 2000, **14**, 383-390.
- [2] Capron I., Nicolai T., Durand D.: Heat induced aggregation and gelation of β -lactoglobulin in the presence of κ -carrageenan. *Food Hydrocoll.*, 1999, **13**, 1-5.
- [3] Doublier J.L., Garnier C., Renard D., Sanchez C.: Protein-polysaccharide interactions. *Current Opin. in Coll. Interf. Sci.*, 2000, **5**, 202-214.
- [4] El-Garawany G.A., Korolczuk J., Ahd-El-Salam M.H.: Effect of stabilizers and mineral salts on the gel strength of whey protein concentrate. *Egyptian J. Dairy Sci.*, 2002, **30**, 325-331.
- [5] Euston S.R., Finnigan S.R., Hirst R.L.: Kinetics of droplet aggregation in heated whey protein-stabilized emulsions: effect of polysaccharides. *Food Hydrocoll.*, 2002, **16**, 499-505.
- [6] Hemar Y., Tamehana M., Munro P.A., Singh H.: Viscosity, microstructure and phase behavior of aqueous mixtures of commercial milk protein products and xanthan gum. *Food Hydrocoll.*, 2001, **15**, 565-574.
- [7] Mleko S.: Effect of protein concentration on whey protein gels obtained by a two-stage heating. *Eur. Food Res. Technol.*, 1999, **6**, 389-392.
- [8] Mleko S.: Rheological properties of milk and whey protein desserts. *Milchwiss.*, 1997, **52**, 262-265.
- [9] Mleko S., Gustaw W.: Model whey protein polymer desert. *Milchwiss.*, 2000, **55**, 149-151.
- [10] Mleko S., Li-Chan E., Pikus S.: Interactions of κ -carrageenan with whey proteins in gels formed at different pH. *Food Res. Inter.*, 1997, **6**, 427-433.
- [11] Sanchez C., Zuniga-Lopez R., Schmitt C., Despond S., Hardy J.: Microstructure of acid-induced skim milk-locust bean gum-xanthan gels. *Inter. Dairy J.*, 2000, **10**, 199-212.
- [12] Schmidt K.A., Smith D.E.: Milk reactivity of gum and milk protein solutions. *J. Dairy Sci.*, 1992, **75**, 3290-3295.

- [13] Zasyplin D.V., Dumay E., Cheftel J.C.: Pressure- and heat-induced gelation of mixed β -lactoglobulin/xanthan solutions. *Food Hydrocoll.*, 1996, **10**, 203-211.

PRODUCTION OF WHEY PROTEIN / POLYSACCHARIDES MIXED GELS AND INVESTIGATION OF THEIR MECHANICAL PROPERTIES

S u m m a r y

The objective of this research was to investigate the effect of the gelling agents: arabic gum, carrageenan, guar gum, locust bean gum, and xanthan gum on the texture properties of 'WPI' gels using a 'compression to failure' test. The whey protein concentration in gels was 15%, and the concentration values of polysaccharides added, in relation to proteins, were respectively: 3, 5, 8, 10, 15, and 20%. The dispersed solutions (pH 7.0) were heated at 80°C during a period of 30 min. When xanthan gum and arabic gum were added, the compression stress value decreased when gels cracked. The addition of locust bean gum and carrageenan caused the increase of the gels hardness, whereas the cohesion of gels decreased as soon as polysaccharides were added except for the addition of the carrageenan. As for the higher concentration values of arabic gum and guar gum, it was stated that the initial cohesiveness of gels was restored; this phenomenon could be attributed to a specific role of the polysaccharides at a particular level of their concentration: they probably were a gluing factor of the structure of gels.

Key words: arabic gum, carrageenan, guar gum, locust bean gum, xanthan gum, whey ☒

HALINA GAMBUŚ, RAFAŁ ZIOBRO, TOMASZ JANKOWSKI,
DOROTA GUMUŁ, MIECZYŚLAW PAŁASIŃSKI

PRÓBA ZASTOSOWANIA PULULANAZY DO OTRZYMYWANIA LINIOWYCH GLUKANÓW ZE SKROBI ZIEMNIACZANEJ

Streszczenie

W pracy podjęto próbę uzyskania liniowych glukanów przez wytrącenie ich z roztworu skrobi ziemniaczanej w 20% (v/v) DMSO, poddanej działaniu pululanazy zawartej w preparacie handlowym Pulluzyme 750 (ABM Chemicals). Strącanie przebiegało 3-etapowo. Po każdym etapie otrzymywano frakcje hydrolizatu, składające się z glukanów liniowych i rozgałęzionych. W uzyskanych frakcjach oznaczano zawartość liniowych łańcuchów skrobiowych, wielkość cząsteczek, tendencję do retrogradacji oraz przemiany fazowe metodą DSC. Najbardziej interesujące właściwości wykazała frakcja III składająca się głównie z krótkich łańcuchów amylozy i wykazująca największą tendencję do retrogradacji. Znaczna entalpia jej topnienia oraz wysoki zakres temperatury tej przemiany fazowej świadczą o dużym udziale krystalitów amylozowych, charakterystycznych dla skrobi odpornej.

Słowa kluczowe: amyloza, pululanaza, retrogradacja, skrobia.

Wstęp

Skrobia jest jednym z najpowszechniej występujących biopolimerów, a jej właściwości w znacznej mierze zależą od rozkładu mas cząsteczkowych i charakterystyki rozgałęzień [11, 17]. Pozbawione rozgałęzień glukany skrobiowe wydają się szczególnie ciekawe ze względu na ich cechy fizyczne, chemiczne i żywieniowe [22]. W naturalnych skrobiach wysokoamylozowych, jak i w amylozach, występują wiązania α -1,6-glikozydowe [25, 27], ponieważ podczas biosyntezy skrobi niezbędne jest działanie enzymów rozgałęziających i usuwających rozgałęzienia. Alternatywą produkcji amylozy poprzez wysokoamylozowe mutacje jest stosowanie

Dr hab. inż. H. Gambuś, dr inż. R. Ziobro, dr inż. D. Gumuł, prof. dr hab. M. Pałasiński, Katedra Technologii Wgłowodanów, Akademia Rolnicza, ul. Balicka 122, 30-149 Kraków, prof. dr hab. T. Jankowski Katedra Biotechnologii i Mikrobiologii Żywności, Akademia Rolnicza, ul. Wojska Polskiego 48, 60-627 Poznań

enzymów usuwających rozgałęzienia oraz odpowiednich metod oczyszczania powstałych produktów hydrolizy [28].

Skrobia pozbawiona rozgałęzień jest materiałem bardziej jednolitym niż glukany rozgałęzione, jednak wpływ długości łańcuchów skrobiowych na jej właściwości jest bardzo duży. W praktycznym zastosowaniu otrzymywanych w ten sposób preparatów wykorzystuje się łatwość retrogradacji, jakiej podlegają nierozgałęzione glukany skrobiowe [8]. Zretrogradowana skrobia zaliczana jest bowiem do skrobi opornych i może służyć jako składnik wielu produktów dietetycznych [4].

Pomimo korzystnych efektów żywieniowych, jakie wywiera skrobia oporna, tendencja do retrogradacji oraz słaba rozpuszczalność liniowych cząsteczek skrobiowych ogranicza zakres wykorzystania skrobi pozbawionej rozgałęzień i powoduje, że do zastosowań w technologii żywności i chemii powinna być ona modyfikowana, podobnie jak to ma miejsce w przypadku amylozy [30]. Takie preparaty mogą z powodzeniem służyć do tworzenia jadalnych błonek lub mikrokapsulek różnego rodzaju związków chemicznych [12]. Skrobia pozbawiona rozgałęzień może być także stosowana do celów analitycznych. Przykładem jest wykorzystanie jej jako wzorca do kalibracji mas cząsteczkowych w chromatografii żelowej [3].

W poprzednim etapie badań opracowano sposób hydrolizy skrobi ziemniaczanej przy zastosowaniu preparatu Pulluzyme 750 L w celu wydzielenia z niej długich łańcuchów amylozowych [13]. Wstępnie użyta metoda rozdziału glukanów skrobiowych w kolumnie chromatograficznej nie pozwoliła jednak na uzyskanie wystarczającej liczby próbek do celów praktycznych.

Celem podjętych badań było zaproponowanie nowej metody uzyskiwania hydrolizatów skrobi ziemniaczanej pozbawionych rozgałęzień.

Materiał i metody badań

Na podstawie danych literaturowych o możliwości rozdziału glukanów przez samoczynne wytrącanie z roztworu [31], podjęto próbę uzyskiwania liniowych glukanów przez ich wytrącanie z roztworu skrobi w 20% DMSO poddanej działaniu pululanazy. Proces ten przebiegał 3-etapowo, przy czym ostatnią frakcję uzyskano przez wytrącanie amylozy butanolem-1. W otrzymanych frakcjach oznaczano zawartość liniowych łańcuchów skrobiowych, wielkość cząsteczek, podatność na retrogradację i przemiany fazowe metodą DSC.

W celu uzyskania możliwie największej liczby liniowych produktów hydrolizy, 40 g handlowej skrobi ziemniaczanej (Superior) zadawano 400 cm³ DMSO przy ciągłym mieszaniu mieszadłem magnetycznym przy 200 obr./min, uzyskując jednolitą zawiesinę, którą ogrzewano do temp. 70°C i w tej temperaturze przetrzymywano 24 h. Powstały roztwór przenoszono ilościowo do kolby i dopełniano do objętości 2 dm³

0,1M buforem octanowym o pH 5. Całość podgrzewano do temp. 70°C w dalszym ciągu mieszając. Po 24 h roztwór ochładzano do temp. 50°C i w tej temperaturze prowadono przez 72 h hydrolizę z dodatkiem 1 cm³ preparatu Pulluzyme 750 (ABM Chemicals, Anglia). Po tym czasie proces przerywano, roztwór chłodzono do temp. 20 ±2°C i umieszczano w chłodziarce do wytrącenia pierwszej frakcji produktów hydrolizy. Po 48 h powstały osad odwirowywano w ciągu 10 min przy 4000 obr./min (wirówka MPW 341) i przemywano go dwukrotnie 96% etanolem, odwirowując przez 5 min po każdym przemyciu. Zbierano osad I z naczynka wirówkowego i suszono 24 h w temp. 20 ±2°C, po czym rozdrabniano w młynku żelaznym uzyskując frakcję I. Otrzymany po odwirowaniu frakcji I supernatant pozostawiano na 120 h w chłodziarce do dalszego strącenia osadu (frakcja II) o przewidywanym innym składzie jakościowym. Dalsze postępowanie z uzyskanym osadem przebiegało analogicznie jak przy frakcji I. Supernatant II, otrzymany po odwirowaniu frakcji II, podgrzewano do temp. 70°C i w tych warunkach, zadawano butanolem-1 przy ciągłym mieszaniu w celu utworzenia kompleksu amylozowo-butanolowego. Ogrzewanie w tej temperaturze prowadzono 1 h, po czym roztwór stopniowo schładzano do około 20°C i umieszczano go na 48-72 h w chłodziarce, do wytrącenia się kompleksu amylozowo-butanolowego. Z kolei odwirowywano osad III i stosując podobną procedurę jak w przypadku osadu I i II, uzyskiwano frakcję III. Otrzymane frakcje II i III suszono podobnie jak frakcję I, ważono i przechowywano do dalszych analiz.

Zawartość amylozy w skrobi i poszczególnych frakcjach określano metodą Morrisona i Laigneleta [16].

Analizę chromatograficzną prowadzono przy zastosowaniu chromatografii żelowej (GPC). Zestaw do badań składał się z 4 kolumn o średnicy 16 mm i długościach : 35, 88, 88 oraz 86 cm, wypełnionych Sephacrylem (Pharmacia) odpowiednio S-200, S-200, S-500 i S-1000. Standardem były pululany (Shodex Standard, Macherey - Nagel) w ilości po 5 mg P – 10, 50, 200 i 800, o masach cząsteczkowych odpowiednio 122·10², 48·10³, 186·10³ i 853·10³ Da. Wymienione standardy rozpuszczano w 2,5 cm³ wody destylowanej i nanoszono na kolumny [20]. Analizę chromatograficzną próbek skrobi ziemniaczanej i frakcji I-III prowadzono w temp. 20 ±2°C, po naniesieniu na kolumnę 50 mg naważki rozpuszczonej w 4 cm³ DMSO, stosując jako eluent 0,005M roztwór Na₂CO₃ o szybkości przepływu średnio 16,5 cm³/h. Z kolumn eluent przepływał przez detektor refraktometryczny do kolektora, gdzie był rozdzielany na 130 frakcji o objętości 5 cm³.

Analiza frakcji uzyskanych po rozdziale chromatograficznym obejmowała oznaczanie zawartości sumy węglowodanów metodą antronową [15], pomiar absorbancji kompleksu jodowo-skrobiowego przy długościach fali 525 nm i 640 nm [20] oraz oznaczanie zawartości amylozy [5]. Na podstawie uzyskanych rozkładów wyliczano wagowo średnie masy cząsteczkowe.

Proces kleikowania badano metodą różnicowej kalorymetrii skaningowej (DSC) według metodyki Fredrikssona i wsp. [4] z modyfikacją własną. Oznaczenie prowadzono w różnicowym kalorymetrze skaningowym firmy Shimadzu. Do aluminiowego naczynka odważano 5 mg skrobi (w przeliczeniu na suchą substancję) oraz wodę w stosunku ilościowym 1: 2, po czym mieszano oba komponenty cienką igłą w celu uzyskania jednolitej mieszaniny. Następnie naczynko hermetycznie zamykano i pozostawiano na 2 h w celu hydratacji skrobi. Po tym czasie umieszczano je w kalorymetrze i ogrzewano od temp. 20 do 180°C z szybkością 10°C/min. Próbką odniesienia było puste naczynko o tych samych parametrach geometrycznych i materiałowych. Z otrzymanych termogramów odczytywano charakterystyczne dla procesu kleikowania następujące temperatury: początku kleikowania – T_o , maksimum piku – T_m i końca przemiany – T_f oraz wyznaczano entalpię kleikowania – ΔH .

Stopień retrogradacji skrobi oznaczano metodą Whistlera [29] zmodyfikowaną przez Gambuś [5]. Dodatkowo przeprowadzano badania endotermicznych przemian zretrogradowanej skrobi przy zastosowaniu DSC zgodnie z metodyką Sieverta i Würscha [23]. Hermetycznie zamknięte naczynka aluminiowe z żelem skrobiowym utworzonym podczas przechowywania kleików skrobiowych schładzano do temp. 8°C i przechowywano w tej temperaturze przez 24, 48 i 168 h. Po określonym czasie naczynka ponownie umieszczano w kalorymetrze i ogrzewano od temp. 20 do 180°C z szybkością ogrzewania 10°C/min. Z uzyskanych termogramów odczytywano następujące temperatury: początku topnienia krystalitów skrobiowych – T_o , maksimum piku przemiany – T_m , końca przemiany – T_f . Analogicznie do procesu kleikowania wyznaczano także entalpię topnienia krystalitów w żelu skrobiowym – ΔH .

Wyniki i dyskusja

W naturalnej (wyjściowej) skrobi ziemniaczanej oznaczono 28% amylozy (tab. 1) i 29% metodą GPC (rys. 1b). W związku z przewagą amylopektyny stopień retrogradacji 1% kleików tej skrobi był ograniczony zarówno stężeniem amylozy, jak i długością jej łańcuchów (rys. 1b) [19]. Niezależnie od temperatury przechowywania kleików, po 48 h pozostał on na takim samym poziomie jak po pierwszej, tzn. około 3% skrobi uległo retrogradacji w temp. 20°C i około 6% zretrogradowało w temp. 8°C (tab. 1). We wczesnym stadium przechowywania retrograduje głównie amyloza [14], dlatego też należy przypuszczać, że wyraźny wzrost retrogradacji po 168 h w temp. 8°C (tab. 1) jest wynikiem wspólnej rekrytalizacji amylozy i bocznych łańcuchów amylopektyny [18, 24].

Podczas kleikowania wyjściowej skrobi ziemniaczanej oznaczono dosyć wąski zakres temperatury tej przemiany cieplnej od 63,3 do 79,4°C (przy różnicy temperatur $\Delta T = 16,1^\circ\text{C}$) (tab. 2), co świadczy o podobnej strukturze rejonów krystalicznych [4] w tej skrobi. Zarówno wysoka temperatura początku kleikowania, jak i duża entalpia tego

procesu (17,6 J/g) dowodzą dużej krystaliczności skrobi, spowodowanej krystalicznością amylopektyny. Jak bowiem twierdzą Tester i Morrison [26], entalpia kleikowania (ΔH) jest miarą całkowitej krystaliczności amylopektyny, czyli miarą ilości i jakości krystalitów skrobi.

Tabela 1

Wyniki pomiarów kompleksu jodowo-skrobiowego przy długości fali 635 nm oraz stopnia retrogradacji [%] 1% wodnych kleików skrobi ziemniaczanej i uzyskanych z niej frakcji.

Measuring results of the iodine-starch complex at a wave length of 635 nm and of the retrogradation degree [%] of 1% water pastes of potato starch and of the fractions obtained from potato this starch.

| Nazwa próbki Sample | Zawartość amylozy Amylose content [%] | Czas przechowywania Storage duration [h] | 20°C | 8°C | -20°C | Stopień retrogradacji Retrogradation degree [%] | | |
|---------------------------------------|--|---|-------------------------|--------|--------|--|------|-------|
| | | | Ekstynkcja / Extinction | | | 20°C | 8°C | -20°C |
| Skrobia ziemniaczana Potato starch | 28 | 1 | 1,2267 | | | | | |
| | | 24 | 1,1882 | 1,1518 | 0,8551 | 3,1 | 6,1 | 30,3 |
| | | 48 | 1,1882 | 1,1470 | | 3,1 | 6,5 | |
| | | 168 | 1,1875 | 0,9556 | | 3,2 | 22,1 | |
| Fracja I Fraction I | 33 | 1 | 1,1297 | | | | | |
| | | 24 | 1,0134 | 0,7805 | 0,0251 | 10 | 31 | 98 |
| | | 48 | 1,0058 | 0,7183 | | 11 | 36 | |
| | | 168 | 0,8548 | 0,4477 | | 24 | 60 | |
| Fracja II Fraction II | 21 | 1 | 0,8018 | | | | | |
| | | 24 | 0,7594 | 0,7726 | 0,0309 | 5,3 | 3,5 | 96,1 |
| | | 48 | 0,7636 | 0,7688 | | 5,3 | 4,9 | |
| | | 168 | 0,7187 | 0,6874 | | 6,3 | 14,3 | |
| Fracja III Fraction III | 62 | 1 | 1,1956 | | | | | |
| | | 24 | 0,1777 | 0,0633 | 0,0334 | 85 | 95 | 97 |
| | | 48 | 0,0941 | 0,0215 | | 92 | 98 | |
| | | 168 | 0,0514 | 0,0084 | | 96 | 99 | |

W naturalnej skrobi uporządkowanie molekularne w tworzeniu podwójnej helisy jest znacznie większe niż uporządkowanie krystalitów [6], dlatego entalpia kleikowania odzwierciedla głównie stratę uporządkowania podwójnej helisy [1]. W warunkach, w jakich badano proces retrogradacji w różnicowym kalorymetrze skaningowym, tj. przy wzroście temp. od 20 do 180°C była odwracalna tylko retrogradacja amylopektyny [7], a duże agregaty utworzone z cząsteczek amylozy i amylopektyny były termicznie bardziej labilne niż agregaty z samej amylozy [10]. Oznaczona niewielka entalpia topnienia po 24 h ($\Delta H = 1,72$ J/g) i o 13°C niższa temperatura początku tej przemiany

cieplnej, w porównaniu z temperaturą początku kleikowania (tab. 2 i 3), świadczą o topnieniu takich właśnie krystalitów, utworzonych głównie z bocznych odgałęzień amylopektyny, a nie z długich łańcuchów amylozy ziemniaczanej (o wagowo średniej masie cząsteczkowej $3,38 \cdot 10^6$ g/mol) (rys. 1a), która w dalszym ciągu nie wytrąciła się z roztworu i tworzyła kompleks z jodem (tab. 1), a więc w bardzo małym stopniu uległa procesowi rekrytalizacji.

Tabela 2

Wyniki pomiarów entalpii kleikowania oraz temperatur charakterystycznych dla tej przemiany, wyznaczone metodą DSC, naturalnej skrobi ziemniaczanej i uzyskanych z niej frakcji.

Enthalpy of gelatinisation and phase transition temperatures for natural potato starch and obtained fractions, acquired by DSC

| Nazwa próbki Sample | Kleikowanie / Gelatinisation | | | |
|------------------------------------|---|------------------------|------------------------|------------------|
| | T _o [°C] | T _m [°C] | T _f [°C] | ΔH [J/g s.s.] |
| Skrobia naturalna Native starch | 63,3 | 67,8 | 79,4 | 17,6 |
| Frakcja I Fraction I | 46,6 | 68,7 | 78,1 | 4,5 |
| Frakcja II Fraction II | 47,4 | 61,4 | 74,1 | 4,8 |
| Frakcja III Fraction III | W warunkach pomiaru ΔH < 1 [J/g s.s.] Under applied conditions ΔH < 1 [J/g s.s.] | | | |

Natomiast stwierdzono wyraźną zmianę entalpii topnienia po 168 h, gdyż postępowała retrogradacja amylopektyny, która jest procesem długotrwałym [14, 19], a dodatkowo było możliwe oznaczenie topnienia krystalitów utworzonych przez samą amylozę (tab. 3).

We frakcji I, uzyskanej przez samorzutne wytrącenie się z roztworu łańcuchów skrobiowych po działaniu enzymu pululanazy, oznaczono średnio około 34% amylozy, zarówno przez zastosowanie metody GPC (rys. 2b), jak i tradycyjnej metody barwienia z jodem (tab. 3). Zgodność wyników badań przy stosowaniu obu tych metod sygnalizowano już w pracach wcześniejszych [4, 9]. Większe o 6% stężenie amylozy we frakcji I w porównaniu z jej zawartością w wyjściowej skrobi ziemniaczanej miało wpływ na większy stopień retrogradacji już po 24 h przechowywania kleików w temp. 20 i -20°C. Godnym wytłumaczenia wydaje się fakt oznaczenia niewielkiej ilości amylozy (34%) w osadzie, który najszybciej spontanicznie wytrącił się z roztworu, tj. po 48 h przechowywania hydrolizatu w chłodziarce, w temp. 8°C. Najbardziej

prawdopodobnym wyjaśnieniem tego zjawiska jest niecałkowite usunięcie rozgałęzień w cząsteczkach skrobi przez enzym pululanazę.

Tabela 3

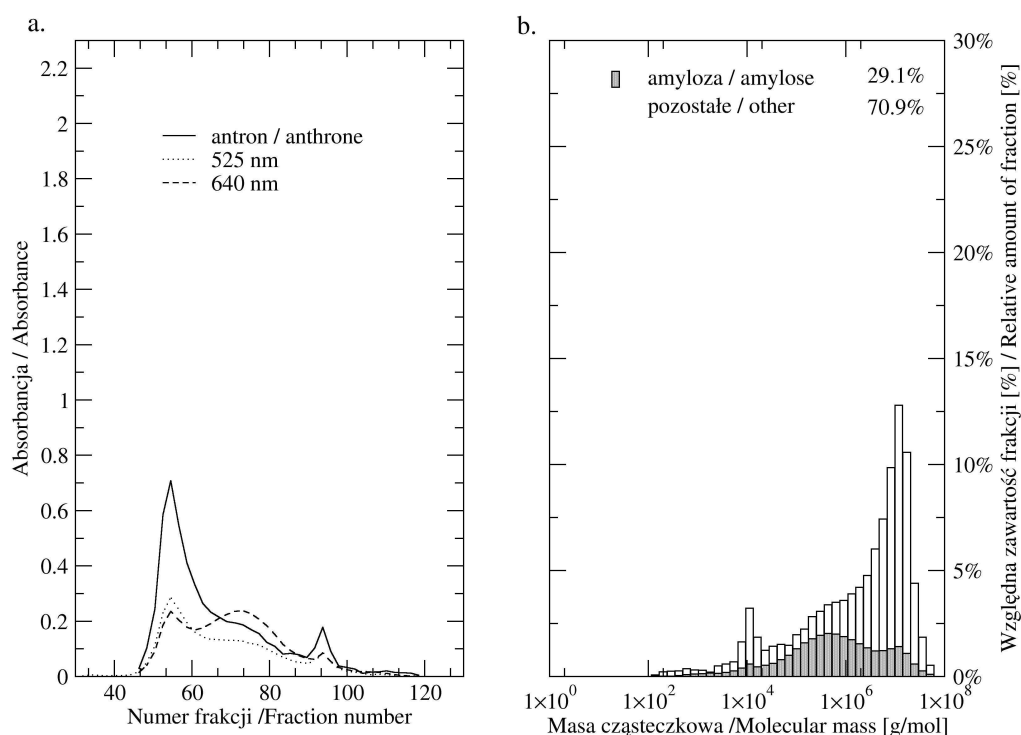
Wyniki pomiarów entalpii rekrytalizacji skrobi ziemniaczanej i uzyskanych frakcji oraz temperatur charakterystycznych dla tej przemiany metodą DSC.

Enthalpy of melting and phase transition temperatures for recrystallised natural potato starch and fractions, acquired by DSC.

| Nazwa próbki Sample | Retrogradacja / Retrogradation | | | | | | | | | | | |
|---------------------------------------|--------------------------------|------------------------|------------------------|---------------------|------------------------|------------------------|------------------------|---------------------|------------------------|------------------------|------------------------|---------------------|
| | 24 h | | | | 48 h | | | | 168 h | | | |
| | T _o [°C] | T _m [°C] | T _f [°C] | ΔH [J/g s.s.] | T _o [°C] | T _m [°C] | T _f [°C] | ΔH [J/g s.s.] | T _o [°C] | T _m [°C] | T _f [°C] | ΔH [J/g s.s.] |
| Skrobia ziemniaczana Potato starch | 50,2 | 59,1 | 70,5 | 1,72 | 34,8 | 57,1 | 77,4 | 6,73 | 36,9 | 55,4 | 82,5 | 9,72 |
| | | | | | | | | | 163,5 | 168 | 172 | 0,55 |
| Frakcja I Fraction I | 111,2 | 124,6 | 133,3 | 1,20 | 97,1 | 123,2 | 136,6 | 3,44 | 105,7 | 124,7 | 137,1 | 4,68 |
| Frakcja II Fraction II | 35,7 | 51,5 | 79,3 | 4,97 | 38,6 | 51,4 | 79,7 | 5,07 | 37,8 | 49,7 | 76,6 | 5,59 |
| Frakcja III Fraction III | 119,6 | 134,6 | 150,2 | 16,9 | 119,1 | 133,1 | 153,6 | 17,9 | 127 | 128 | 147 | 18,8 |

Niektóre fragmenty amylopektyny zmniejszyły się do rozmiarów łańcuchów amylozy, której wagowo średnia masa cząsteczkowa wynosiła $1,41 \cdot 10^4$ g/mol, a wagowo średnia masa cząsteczkowa amylopektyny zmniejszyła się z $8,42 \cdot 10^6$ g/mol w skrobi naturalnej do $2,84 \cdot 10^6$ g/mol we frakcji I (rys. 2). Ze względu więc na większą ruchliwość związaną z małymi rozmiarami, fragmenty te mogły szybciej utworzyć zarodki krystalizacji czy też podwójne helisy z cząsteczkami amylozy i razem z nią wytrącić się z roztworu [32]. Oznaczona przy użyciu GPC niewielka wagowo średnia masa cząsteczkowa tej frakcji ($2,34 \cdot 10^4$ g/mol), jak i niewielka masa cząsteczkowa zawartej w niej amylopektyny ($2,84 \cdot 10^4$ g/mol) w pełni przemawiają za tą hipotezą (rys. 2b).

Badając proces kleikowania glukanów zawartych we frakcji I metodą DSC, określono znacznie niższą temperaturę początku kleikowania, jak i szerszy zakres temperatury tej przemiany ($31,4^{\circ}\text{C}$) oraz czterokrotnie mniejszą entalpię kleikowania ($\Delta H = 4,5 \text{ J/g}$) niż w wyjściowej skrobi naturalnej (tab. 2), co świadczy o mniejszej całkowitej krystaliczności tej frakcji [26] i niejednorodności rejonów krystalicznych [4].



Rys. 1a. Suma cukrów oraz zdolność wiązania jodu przez frakcje skrobi ziemniaczanej uzyskane po rozdziale w kolumnach chromatograficznych GPC.

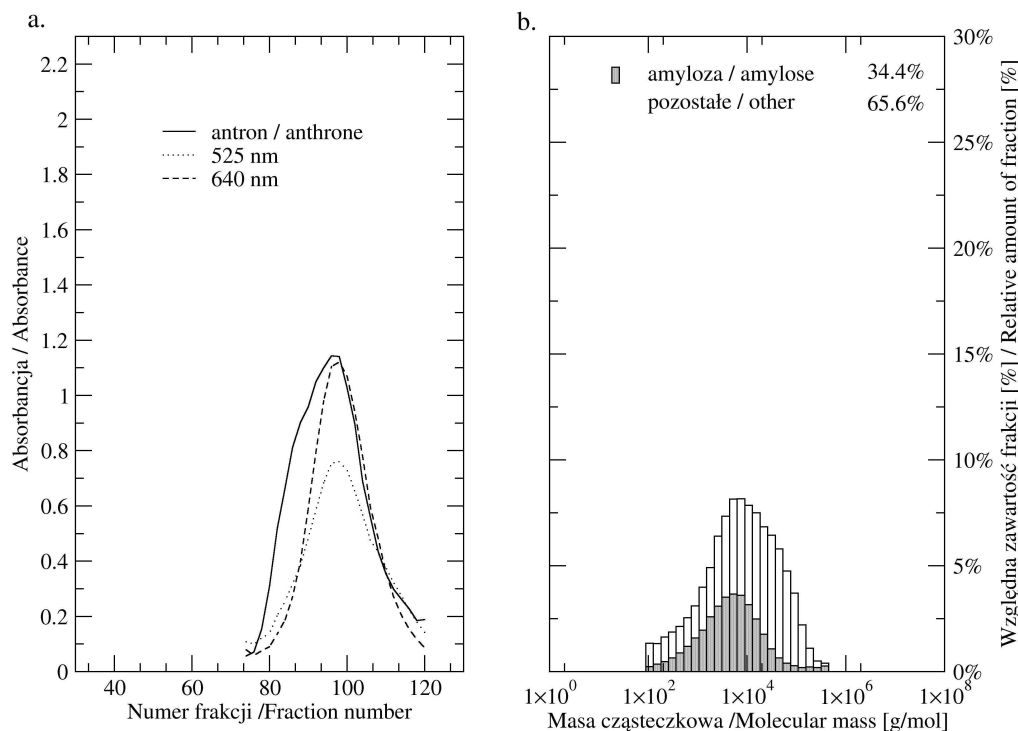
Fig. 1a. The amount of total carbohydrates and the ability of potato starch fractions, obtained from native potato starch using GPC, to bind iodine.

Rys. 1b. Rozkład mas cząsteczkowych amylozy i rozgałęzionych glukanów skrobi ziemniaczanej.

Fig. 1b. The molecular weight distribution of amylose and branched glucans present in native potato starch.

Jak już wcześniej zaobserwowali Fredriksson i wsp. [4], wielkość entalpii kleikowania skrobi jest ściśle skorelowana z wielkością entalpii jej retrogradacji. Zgodnie z powyższymi obserwacjami entalpia topnienia, podobnie jak entalpia kleikowania krystalitów utworzonych z cząsteczek skrobi we frakcji I, były mniejsze w porównaniu ze skrobią wyjściową, niezależnie od czasu przechowywania żelu (tab. 3). Jednak w miarę upływu czasu jego przechowywania entalpia topnienia (ΔH) wzrastała,

co świadczy o postępującym procesie rekrytalizacji żelu. Obserwowana przemiana fazowa dotyczyła głównie krystalitów utworzonych przez rekrytalizację łańcuchów amylozy, czego dowodzi wysoka, powyżej 100°C, temperatura początku tej przemiany (tab. 3).



Rys. 2a. Suma cukrów oraz zdolność wiązania jodu przez glukany skrobiowe zawarte we frakcji I uzyskane po rozdziale w kolumnach chromatograficznych GPC.

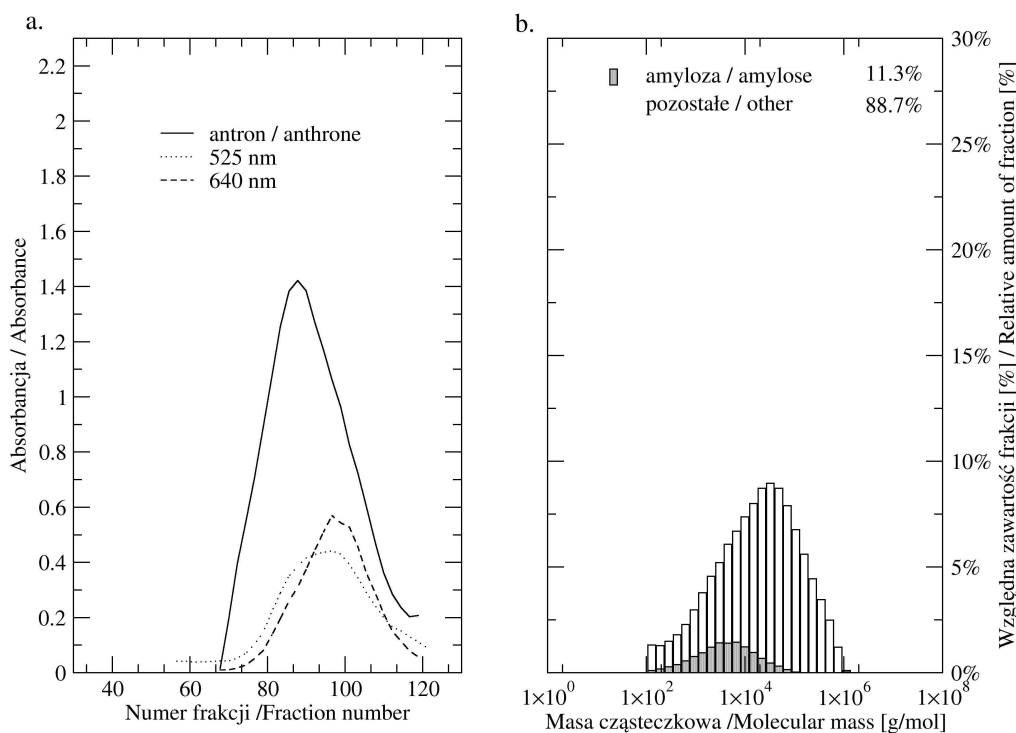
Fig. 2a. The amount of total carbohydrates and the ability of starch glucans in fraction I, obtained using GPC, to bind iodine.

Rys. 2b. Rozkład mas cząsteczkowych amylozy i rozgałęzionych glukanów skrobi zawartej we frakcji I.

Fig. 2b. The molecular weight distribution of amylose and branched glucans present in fraction I.

We frakcji II oznaczono tylko około 20% amylozy metodą klasyczną (tab.1) i około 11% metodą GPC (rys. 3a), a więc znacznie mniej niż w skrobi wyjściowej. Osad ten otrzymano przez spontaniczne wytrącenie się cząsteczek z hydrolizatu po 96 h przechowywaniu go w temp. 8°C i wcześniejszym usunięciu frakcji I. Były to głównie duże fragmenty amylopektyny powstałe w wyniku działania pululanazy, o wagowo średniej masie cząsteczkowej $7,9 \cdot 10^4$ g/mol (rys. 3b), a więc mniejsze od amylopektyny skrobi wyjściowej, ale większe od fragmentów amylopektyny zawartych we frakcji pierwszej (I). Na skutek większych rozmiarów i mniejszej ruchliwości cząsteczki te znacznie wolniej mogły tworzyć ośrodki krystalizacji, a tym samym

wytrącać się z roztworu [19, 32]. Z tych samych powodów w temp. 20°C nawet po 168 h przechowywania oznaczono niewielki stopień retrogradacji (3 lub 6%) (tab. 1), który zwiększył się wprawdzie w temp. 8°C, ale i tak pozostał kilkakrotnie mniejszy w porównaniu z retrogradacją glukanów zawartych we frakcji I (tab. 1). Sądząc z procesu kleikowania tej frakcji (tab. 2), jej całkowita krystaliczność związana z przewagą cząsteczek amylopektyny [26] była zbliżona do krystaliczności frakcji I (tab. 1). Inaczej natomiast następowała rekrytalizacja obu tych frakcji, gdyż zakres temperatury topnienia krystalitów powstających podczas retrogradacji frakcji I był typowy dla amylozy, zaś w przypadku frakcji II charakterystyczny dla amylopektyny. Również entalpia retrogradacji, czyli topnienia krystalitów powstałych z udziałem cząsteczek amylopektyny (tab. 3) odbiegała od oznaczonej w przypadku frakcji I.



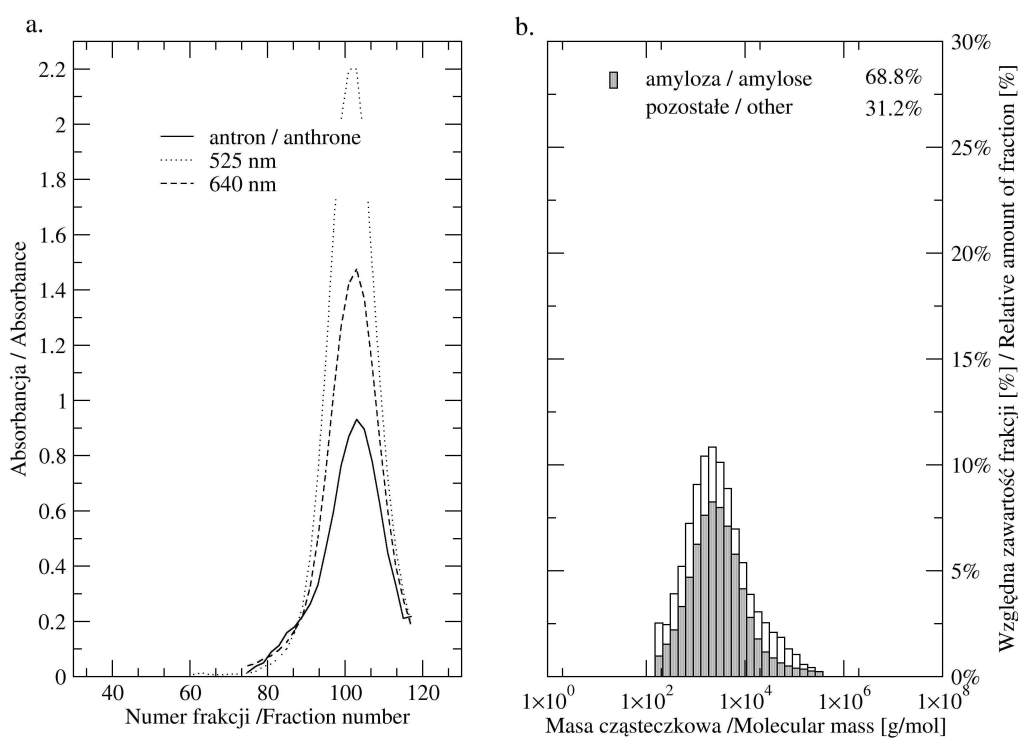
Rys. 3a. Suma cukrów oraz zdolność wiązania jodu przez glukany skrobiowe zawarte we frakcji II uzyskane po rozdiale w kolumnach chromatograficznych GPC.

Fig. 3a. The amount of total carbohydrates and the ability of starch glucans in fraction II, obtained using GPC, to bind iodine.

Rys. 3b. Rozkład mas cząsteczkowych amylozy i rozgałęzionych glukanów skrobi zawartej we frakcji II.

Fig. 3b. The molecular weight distribution of amylose and branched glucans present in fraction II.

Frakcję III otrzymano poprzez strącenie butanolem najkrótszych łańcuchów amylozy, powstałych prawdopodobnie w wyniku działania α -amylazy, którą był zanieczyszczony preparat pululanazy [13]. Osad ten zawierał więc głównie liniowe glukany, o czym świadczy oznaczona w nim zawartość amylozy na poziomie 60%, o wagowo średniej masie cząsteczkowej $8,79 \cdot 10^3$ g/mol (rys. 4b). Jak wynika z rysunku, we frakcji III oznaczono jeszcze około 30% glukanów, które nie tworzyły barwnego kompleksu z jodem, a ich średnia wagowo masa cząsteczkowa była większa niż liniowych łańcuchów i wynosiła $1,36 \cdot 10^4$ g/mol.



Rys. 4a. Suma cukrów oraz zdolność wiązania jodu przez glukany skrobiowe zawarte we frakcji III uzyskane po rozdziale w kolumnach chromatograficznych GPC.

Fig. 4a. The amount of total carbohydrates and the ability of starch glucans in fraction III, obtained using GPC, to bind iodine.

Rys. 4b. Rozkład mas cząsteczkowych amylozy i rozgałęzionych glukanów skrobi zawartej we frakcji III.

Fig. 4b. The molecular weight distribution of amylose and branched glucans present in fraction III.

Strącanie liniowych łańcuchów butanolem trwało kilkadziesiąt godzin, stąd w tym czasie mogła zachodzić współkryształizacja rozgałęzionych fragmentów amylopektyny, które pozostały w supernatancie po sedymentacji frakcji II. Te zretrogradowane

fragmenty zostały odwirowane razem z kompleksami amylozowo-butanolowymi, tworząc w rezultacie niejednorodną frakcję III.

Ze względu na to, że całkowite zdyspergowanie łańcuchów amylozy lub skrobi wysokoamylozowych w wodzie wymaga temp. powyżej 150°C, w warunkach stosowanej do oznaczania stopnia retrogradacji metody Whistlera [29] rozpuszczenie frakcji III nie było możliwe, dlatego też zastosowano po autoklawie dodatkowe ogrzewanie suspensji przez 2 h w łaźni olejowej, w temp. 160°C. Sposób ten umożliwił częściowe rozpuszczenie cząsteczek glukanów zawartych w tej frakcji i oznaczenie stopnia retrogradacji uzyskanych kleików (tab. 1). Zgodnie z oczekiwaniami uległy one znacznej rekrytalizacji, bo aż w 80%, już po 24 h przechowywania tych kleików w temp. 20°C, a po 168 h w tej temperaturze jej wartość zwiększyła się do ponad 90%. W niższej temp. (8°C) stopień retrogradacji był jeszcze większy i po 24 h przekraczał 90%.

Oznaczona entalpia kleikowania wynosiła poniżej 1 J/g, co spowodowane było szczególnie wysoką zawartością amylozy, niedającej endotermy w badanym zakresie temperatur. Frakcja ta może być więc uznana za zretrogradowaną amylozę, bardzo trudno rozpuszczalną w wodzie nawet podczas gotowania, a zatem za rodzaj skrobi odpornej [2]. Temperatury topnienia krystalitów amylozowych obecnych we frakcji III były wyższe niż w przypadku frakcji I, a entalpia tej przemiany kilkakrotnie przewyższała wartości uzyskane w odniesieniu do pozostałych próbek i nie ulegała znaczącym zmianom podczas przechowywania, co oznacza że jest to preparat o dużym udziale struktur krystalicznych. Następowoło jednak pewne porządkowanie się tych struktur, o czym świadczy zawężenie zakresu temperatur przemiany fazowej $\Delta T=20^\circ\text{C}$ po 168 h przechowywania w temp. 8°C (tab. 3).

Preparaty tego rodzaju znajdują zastosowanie jako środki poprawiające wartość dietetyczną produktów spożywczych, gdyż lepiej niż błonnik pokarmowy spełniają funkcje fizjologiczne w przewodzie pokarmowym człowieka [21]. W związku z tym, spośród trzech uzyskanych frakcji hydrolizatów, frakcja III wykazała najbardziej interesujące właściwości, sugerujące możliwości jej praktycznego zastosowania, a także inspirujące do dalszych badań nad jej składem i strukturą.

Wnioski

1. Hydroliza skrobi ziemniaczanej preparatem Pulluzyme 750 nie spowodowała całkowitego usunięcia rozgałęzień z cząsteczek amylopektyny, co w połączeniu z działaniem α -amylazy zawartej w tym preparacie doprowadziło do uzyskania trzech frakcji hydrolizatów, które różniły się wagowo średnią masą cząsteczkową, stopniem i entalpią retrogradacji oraz endotermami przejść fazowych.
2. Najbardziej interesujące właściwości funkcjonalne wykazała frakcja III, w największym stopniu ulegająca retrogradacji, o dużym udziale krystalitów

amylozowych, znacznej entalpii i wysokich zakresach temperatury topnienia, czyli cechach charakterystycznych dla skrobi odpornej.

Praca wykonana w ramach grantu PBZ/KBN/021/P06/99/03.

Literatura

- [1] Cooke, D., Gidley, J.: Loss of crystalline and molecular order during starch gelatinization, origin of the enthalpic transition. *Carbohydrate Res.*, 1992, **277**, 550-561.
- [2] Eerlingen, R., Deceuninck, M., Delcour, J.: Enzyme-resistant starch. II. Influence of amylose chain length on resistant starch formation. *Cereal Chem.*, 1993, **70** (3), 345-350.
- [3] Fredriksson, H., Andersson, R., Koch, K., Aman, P.: Calibration of a size-exclusion chromatography system using fractions with defined amylopectin unit chains. *J. Chromatography A*, 1997, **768**, 325-328.
- [4] Fredriksson, H., Silverio, H., Andersson, R., Eliasson, R., Aman, P.: The influence of amylose and amylopectin characteristics on gelatinization and retrogradation properties of different starches. *Carbohydr. Polym.*, 1998, **35**, 119-134.
- [5] Gambuś, H.: Wpływ fizyczno-chemicznych właściwości skrobi na jakość i starzenie się pieczywa (badania modelowe). *Zesz. Nauk. AR Kraków*, 1997, Rozprawy **226**.
- [6] Gidley, M.: Quantification of the structural features of starch polysaccharides by NMR spectroscopy. *Carbohydrate Res.*, 1985, **139**, 85-93.
- [7] Gudmundsson, M., Eliasson, A.: Retrogradation of amylopectin and the effect of amylose and added surfactants/emulsifiers. *Carbohydrate Polym.*, 1995, **13**, 295-315.
- [8] Guraya, H., James, C., Champagne, E.: Evaluation of debranched rice starch sample preparation methods for anion-exchange chromatography with pulsed amperometric detector. *J. Liq. Chrom. & Rel. Technol.*, 2001, **24** (15), 2303-2314.
- [9] Kalichevsky, M., Oxford, P., Ring, S.: The retrogradation and gelation of amylopectin from various botanical sources. *Carbohydr. Res.*, 1990, **198**, 49-55.
- [10] Klucinec, J., Thompson, D.: Amylose and amylopectin interact in retrogradation of dispersed high-amylose starches. *Cereal Chem.*, 1999, **76** (2), 282-291.
- [11] Kortsee, A., Suurs, L., Vermeesch, A., Keetels, C., Jacobsen, E., Visser, R.: The influence of an increased degree of branching on the physico-chemical properties of starch from genetically modified potato. *Carbohydr. Polym.*, 1998, **37**, 173-184.
- [12] Kubik, S., Wulff, G.: Characterization and chemical modification of amylose complexes. *Starch*, 1993, **45** (6), 220-225.
- [13] Kujawski, M., Ziobro, R., Gambuś, H.: Preparation of unbranched glucans by hydrolysis of starch of various botanical origin with pullulanase. *EJPAU*, 2003, **6** (2), series: 'Food Science and Technology'.
- [14] Matsukura, V., Matsunaga, A., Kainuma, K.: Structural studies on retrograded normal waxy corn starches. *J. Jpn. Soc. Starch Sci.*, 1983, **30**, 106-111.
- [15] Morris, D.: Quantitative determination of carbohydrates with dreywoods anthrone reagent. *Science*, 1948, **107**, 254-255.

- [16] Morrison, W., Laignelet, B.: An improved colorimetric procedure for determining apparent and total amylose in cereal and other starches. *J. Cereal Sci.*, 1983, **1**, 9-20.
- [17] Mua, J. P., Jackson, D. S.: Relationships between functional attributes and molecular structures of amylose and amylopectin fractions from cornstarch. *J. Agric. Food Chem.*, 1997, **45**, 3848-3854.
- [18] Mua, J. P., Jackson, D. S.: Retrogradation and gel textural attributes of cornstarch amylose and amylopectin fractions. *J. Cereal Sci.*, 1998, **27**, 157-166.
- [19] Pfannemueller, B.: Struktura i właściwości skrobi. W: *Materiały IV Letniej Szkoły Skrobiowej – Problemy modyfikacji skrobi*, Oddz. Małopolski PTTŻ, Zawoja, 1992, 63-78.
- [20] Praznik, W., Smidt, S., Ebermann, R.: Gelchromatographische Untersuchungen an hydrolytisch abgebauten Amylosen. *Starch/Stärke*, 1983, **35**, 58-61.
- [21] Puupponen-Pimia, R., Aura, A., Oksman-Caldentey, K., Myllarinen, P., Saarela, M., Malttila-Sandholm, T., Poutanen, K.: Development of functional ingredients for gut health. *Trends Food Sci. Technol.*, 2002, **13**, 3-11.
- [22] Richardson, P., Jeffcoat, R., Shi, Y.-C.: High amylose starches: from biosynthesis to their use as food ingredients. *MRS Bulletin*, 2000, **31**, 20-24.
- [23] Sievert, D., Wuersch, P.: Amylose chain association based on differential scanning calorimetry. *Food Sci.*, 1993, **58**, 1332-1334.
- [24] Silverio, J., Fredriksson, H., Andersson, R., Eliasson, A., Aman, P.: The effect of temperature cycling on the amylopectin retrogradation of starches with different amylopectin unit-chain length distribution. *Carbohydr. Polym.*, 2000, **42**, 175-184.
- [25] Slattery, C., Kavakli, I. H., Okita, T.: Engineering starch for increased quantity and quality. *Trends Plant Sci.*, 2000, **5** (7), 291-298.
- [26] Tester, R., Morrison, W.: Swelling and gelatinization of cereal starches. II. Waxy rice starches. *Cereal Chem.*, 1990, **67**, 205-212.
- [27] Van de Wal, M., D'Hulst, C., Vincken, J.-P., Buleon, A., Visse, R., Ball, S.: Amylose is synthesized in vitro by extension of and cleavage from amylopectin. *J. Biol. Chem.*, 1998, **273** (35), 22232-22240.
- [28] Vorweg, W., Radosta, S.: Study of a preparative-scale process for the production of amylose. *Carbohydr. Polym.*, 2002, **47**, 181-189.
- [29] Whistler, R., Wolfrom, M.: Analysis and preparation of sugars. *Methods in Carbohydrate Chemistry*, 1962, **1**, 386-388.
- [30] Wulff, G., Steinert, A., Hoeller, O.: Modification of amylose and investigation of its inclusion behavior. *Carbohydr. Res.*, 1998, **307**, 19-31.
- [31] Young, A.: Fractionation of starch. W: *Starch chemistry and technology*, J. Whistler, Ed. 1984, 249-283.
- [32] Zhang, W., Jackson, D.: Retrogradation behavior of wheat starch gels with differing molecular profiles. *J. Food Sci.*, 1992, **57** (6), 1428-1432.

AN ATTEMPT TO USE PULLULANASE FOR THE PRODUCTION OF LINEAR GLUCANS FROM POTATO STARCH

S u m m a r y

Under this paper's project, an attempt was made to obtain linear glucans by precipitating them from a solution of potato starch dissolved in DMSO and hydrolyzed by a commercial pullulanase preparation

called 'Pulluzyme 750' (ABM Chemicals). The precipitation procedure included three steps, after each step completed, a different fraction of hydrolyzate was obtained. The following values were determined in individual fractions obtained: the amylose chains content, the molecular mass distribution, the retrogradation tendency, and the phase transition characteristics using a DSC method. It was stated that the fraction III had the most interesting properties. The fraction III was composed mostly of short-chain amylose and it exhibited the highest tendency to retrograde. A significant enthalpy of the melting of the retrograded fraction III and the high phase transition temperatures prove a high content of amylose crystallites, which appear characteristic of a resistant starch.

Key words: amylose, pullulanase, retrogradation, starch ☒

AGNIESZKA KITA, GRAŻYNA LISIŃSKA

WPLYW RODZAJU TŁUSZCZU SMAŻALNICZEGO NA WŁAŚCIWOŚCI SENSORYCZNE CZIPSÓW ZIEMNIACZANYCH PODCZAS PRZECHOWYWANIA

Streszczenie

Celem pracy było porównanie jakości czipsów ziemniaczanych smażonych w dwóch rodzajach tłuszczu, pakowanych w folię metalizowaną, przechowywanych standardowo (temp. 20°C, wilgotność 50%) i w szafie klimatyzacyjnej (temp. 45°C, wilgotność 80%). Stwierdzono, że czipsy smażone w utwardzonym oleju palmowym zawierały więcej tłuszczu i charakteryzowały się twardszą konsystencją niż czipsy smażone w oleju płynnym. Podczas przechowywania wzrastała wilgotność czipsów niezależnie od ich rodzaju. Wilgotność czipsów przechowywanych w szafie klimatyzacyjnej wzrastała dwukrotnie szybciej niż czipsów przechowywanych w warunkach standardowych. Tłuszcz wyekstrahowany z czipsów smażonych w oleju płynnym charakteryzował się niższą liczbą kwasową i wyższą liczbą Lea niż tłuszcz z czipsów smażonych w oleju utwardzonym – w oznaczeniach wykonanych bezpośrednio po wyprodukowaniu. Wyższą stabilnością oksydacyjną charakteryzowały się czipsy smażone w tłuszczu utwardzonym. Podczas przechowywania czipsów w warunkach standardowych, niezależnie od użytego tłuszczu smażalniczego, nie stwierdzono w tłuszczu zmian liczby kwasowej, natomiast nastąpił wzrost liczby Lea i był on większy niż w czipsach przechowywanych w szafie klimatyzacyjnej. Czipsy przechowywane w warunkach standardowych (po 36 tygodniach) oraz w szafie klimatyzacyjnej (po 9 tygodniach) charakteryzowały się podobnym smakiem i zapachem. Różnice w konsystencji spowodowane były wyższą wilgotnością czipsów przechowywanych w szafie klimatyzacyjnej.

Wyniki badań z przechowywania czipsów w trybie przyspieszonym pozwalają wyznaczyć tempo przemian produktów przechowywanych w warunkach standardowych. Stosowanie oleju utwardzonego w produkcji czipsów zwiększa ich stabilność oksydacyjną, jednak czipsy te chłoną więcej tłuszczu.

Słowa kluczowe: czipsy ziemniaczane, tłuszcz, jakość, przechowywanie.

Wprowadzenie

Czipsy ziemniaczane charakteryzują się stosunkowo długim – kilkunastotygodniowym terminem przydatności do spożycia. Na ich trwałość ma wpływ zarówno rodzaj użytego tłuszczu smaźalniczego, rodzaj opakowania, jak i warunki przechowywania. Tłuszcz smaźalniczy kształtuje przede wszystkim smak i zapach gotowych wyrobów, wpływa również na ich wygląd oraz konsystencję. Tłuszcz, który stanowi około 35% masy czipsów jest także składnikiem najszybciej ulegającym niekorzystnym przemianom podczas przechowywania.

W zależności od regionu świata do smażenia czipsów stosowane są różnego typu oleje roślinne często poddane modyfikacjom poprawiającym ich właściwości, a szczególnie stabilność termooksydacyjną. W Ameryce wciąż bardzo popularne są oleje bawełniane i słonecznikowy, a w Europie – częściowo uwodornione oleje sojowy lub rzepakowy. Jednak najpopularniejszym olejem smaźalniczym na świecie w ostatnich latach stał się olej palmowy, a właściwie jego frakcje. Olej palmowy charakteryzuje się wysoką zawartością nasyconych kwasów tłuszczowych – około 50% (z 46,8% zawartością kwasu palmitynowego). Drugim najważniejszym kwasem tłuszczowym oleju palmowego jest kwas oleinowy – 37,6%. Jako tłuszcz smaźalniczy najczęściej wykorzystywana jest jedna z frakcji oleju palmowego – oleina palmowa, która charakteryzuje się niższą zawartością nasyconych kwasów tłuszczowych (38,3% – kwasu palmitynowego, 42,1% kwasu oleinowego i 10,6% kwasu linolowego) [10]. Skład kwasów tłuszczowych w dużej mierze wpływa na stabilność tłuszczu zarówno w procesie smażenia, jak i podczas przechowywania [1, 8, 10, 13, 14, 15, 16].

Przechowywanie jest ważnym etapem w kształtowaniu jakości produktów przekąskowych, które zwykle trafiają do konsumenta po kilku lub kilkunastu tygodniach od momentu ich wyprodukowania. Badanie zmian właściwości produktów podczas przechowywania można prowadzić w warunkach standardowych bądź w warunkach krytycznych. Szybkie testy przechowalnicze prowadzi się zwykle w podwyższonej temperaturze i wilgotności powietrza, które przyspieszają tempo zachodzących przemian w przechowywanych produktach.

Celem pracy było porównanie jakości czipsów ziemniaczanych smażonych w dwóch rodzajach tłuszczu, pakowanych w folię metalizowaną, przechowywanych standardowo (temp. 20°C, wilgotność 50%) i w szafie klimatyzacyjnej (temp. 45°C, wilgotność 80%).

Materiał i metody badań

Materiałem użytym do badań były czipsy ziemniaczane, do smażenia których użyto płynnego i utwardzonego oleju palmowego. Próby czipsów pobierano sześciokrotnie, bezpośrednio z linii technologicznej zakładu produkcyjnego i

przechowywano w szafie klimatyzacyjnej (temp. 45°C, wilgotność względna 80%) przez 9 tygodni oraz w warunkach standardowych (temp. 20°C, wilgotność względna 50%) przez 36 tygodni. Założono, że jeden tydzień przechowywania w szafie klimatyzacyjnej odpowiada 4 tygodniom przechowywania w warunkach standardowych.

Analizy czipsów wykonywano bezpośrednio po wyprodukowaniu, co tydzień w czasie 9-tygodniowego przechowywania w szafie klimatyzacyjnej oraz po 36 tygodniach przechowywania w warunkach standardowych. W czipsach oznaczano wilgotność – metodą suszarkową [6], zawartość tłuszczu – metodą Soxhleta [6], cechy sensoryczne: barwę, smak, zapach i konsystencję wg 5-punktowej skali ocen [12] oraz teksturę instrumentalnie przy użyciu aparatu pomiarowego typu Instron 5544 (mierzone siłę potrzebną do złamania czipsa). W tłuszczu wyekstrahowanym z czipsów oznaczano liczbę kwasową [12] oraz liczbę Lea [12].

Zmiany wilgotności, wartości liczby kwasowej oraz liczby Lea tłuszczów wyekstrahowanych z czipsów, ogólnej oceny sensorycznej i tekstury czipsów podczas przechowywania przedstawiono jako linie trendu opisane równaniami wielomianów z uwzględnieniem średnich z sześciu prób czipsów smażonych w dwóch rodzajach olejów [4].

Wyniki i dyskusja

W tab. 1. przedstawiono średnie wyniki wilgotności i zawartości tłuszczu w czipsach 6 prób smażonych w dwóch rodzajach oleju palmowego.

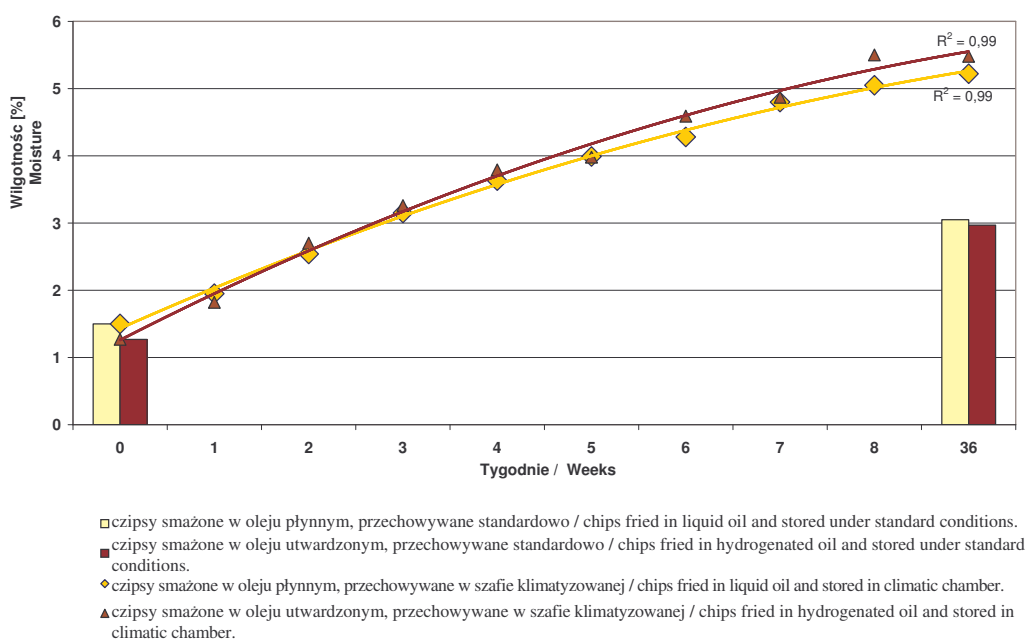
Tabela 1

Wilgotność i zawartość tłuszczu w czipsach bezpośrednio po wyprodukowaniu, smażonych w utwardzonym i płynnym oleju palmowym.
Moisture and fat content in freshly manufactured chips, prior to their frying in a liquid and hydrogenated palm oil.

| Rodzaj oleju Type of oil | Wilgotność Moisture [%] | Zawartość tłuszczu Fat content [%] |
|-------------------------------------|----------------------------|---------------------------------------|
| Olej utwardzony Hydrogenated oil | 1,50 | 35,8 |
| Olej płynny Liquid oil | 1,27 | 32,8 |

Wilgotność czipsów po wyprodukowaniu była odpowiednia, poniżej 1,5%. Czipsy smażone w oleju utwardzonym chłonęły więcej tłuszczu (35,8%) niż smażone w oleju płynnym (32,8%). Różnice w zawartości tłuszczu w czipsach w zależności od rodzaju użytego do smażenia oleju stwierdzili również inni autorzy [1, 3, 8, 10]. Rani i wsp. [13] porównując zawartość tłuszczu w produktach przekąskowych smażonych w oleju sojowym, arachidowym oraz uwodornionym tłuszczu roślinnym stwierdzili, że najwyższą zawartością tłuszczu charakteryzowały się czipsy smażone w oleju uwodornionym.

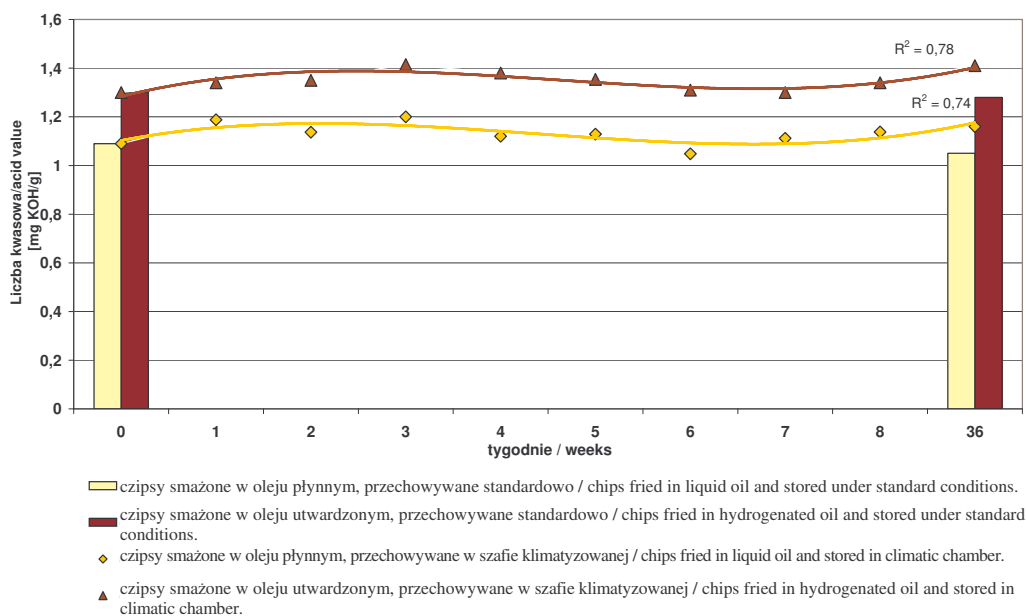
Zmiany wilgotności czipsów przechowywanych w szafie klimatyzacyjnej oraz w warunkach standardowych przedstawiono na rys. 1. Podczas przechowywania wilgotność czipsów wzrastała, przy czym rodzaj użytego tłuszczu smaźalniczego nie miał istotnego wpływu na kształtowanie wilgotności czipsów. Wilgotność czipsów podczas przechowywania w dużej mierze uzależniona była od warunków przechowywania. Czipsy przechowywane w temp. 45°C i 80% wilgotności (szafa klimatyzacyjna) chłonęły około 2-krotnie więcej wody niż czipsy przechowywane w temp. 20°C i 50% wilgotności (warunki standardowe). Zmiany wilgotności czipsów w obu warunkach przechowywania zachodziły jednak z podobną szybkością w odpowiednich punktach czasowych, co stwierdzono w poprzedniej pracy [4].



Rys. 1. Zmiany wilgotności czipsów smażonych w płynnym i utwardzonym oleju palmowym, przechowywanych w szafie klimatyzacyjnej (0-9 tygodni) i standardowo (36 tygodni).

Fig. 1. Changes in moisture of chips fried in liquid and hydrogenated palm oil during their storing in climatic chamber (0-9 weeks) and under standard conditions (36 weeks).

Przemiany zachodzące we frakcji tłuszczowej przechowywanych czipsów przedstawiono jako zmiany liczby kwasowej i liczby Lea. Zmiany hydrolytyczne zobrazowano jako zmiany liczby kwasowej (rys. 2). Utwardzony tłuszcz palmowy charakteryzował się niewiele wyższą liczbą kwasową – 1,3 mg KOH/g niż tłuszcz płynny – 1,1 mg KOH/g. Różnica ta utrzymywała się przez cały 9-tygodniowy okres przechowywania czipsów w szafie klimatyzacyjnej i podczas przechowywania w warunkach standardowych. Przechowywanie w warunkach standardowych nie wpłynęło na zmianę wartości liczby kwasowej tłuszczów zawartych w czipsach.

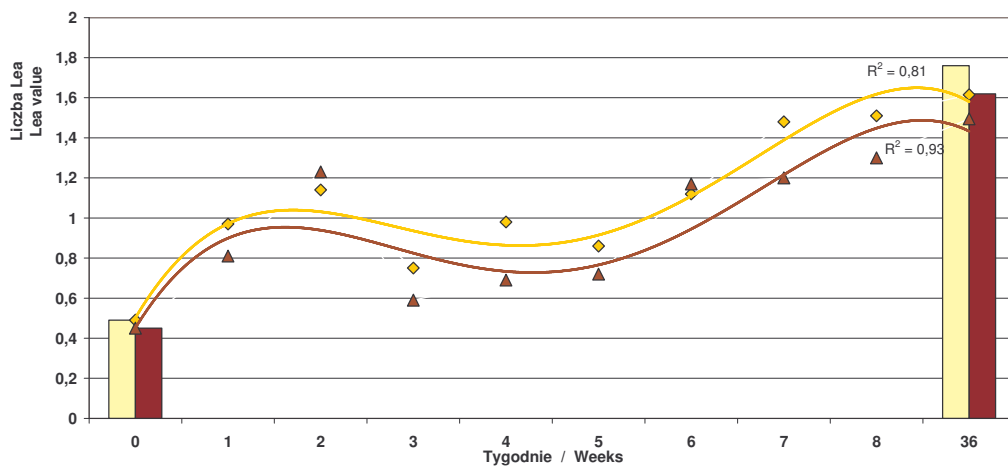


Rys. 2. Zmiany liczby kwasowej (mg KOH/g) tłuszczu wyekstrahowanego z czipsów smażonych w płynnym i utwardzonym oleju palmowym, przechowywanych w szafie klimatyzacyjnej (0-9 tygodni) i standardowo (36 tygodni).

Fig. 2. Changes in the acid value (mg KOH/g) of fat extracted from chips fried in liquid and hydrogenated palm oil, and, than, stored in climatic chamber (0-9 weeks) and under standard conditions (36 weeks).

Zmiany liczby Lea, obrazujące tempo przemian oksydacyjnych zachodzących w czipsach podczas przechowywania, przedstawiono na rys. 3. Czipsy bezpośrednio po wyprodukowaniu charakteryzowały się niską wartością liczby Lea – 0,45. Podczas przechowywania stwierdzono początkowo wzrost wartości liczby Lea, następnie

ustabilizowanie oraz ponowny wzrost w ostatnich tygodniach przechowywania. Świadczy to o zróżnicowanym tempie tworzenia i rozkładu nadtlenków. Min i wsp. [9] analizując zmiany liczby nadtlenkowej w czipsach podczas przechowywania stwierdzili, że zawartość nadtlenków wzrastała do pewnego momentu, po czym w kolejnych tygodniach przechowywania obniżała się. Większość autorów [3, 7, 8, 10] stwierdziła, że wraz z wydłużaniem czasu przechowywania czipsów wzrastała ilość nadtlenków w wyekstrahowanym z nich tłuszczu. Na tempo przemian oksydacyjnych wpływa zarówno rodzaj oleju, jak i warunki przechowywania. W przeprowadzonym doświadczeniu wyższą liczbą Lea podczas przechowywania charakteryzował się płynny olej palmowy w porównaniu z olejem utwardzonym. Podobne zróżnicowanie zawartości nadtlenków w tłuszczu z czipsów smażonych w różnego rodzaju olejach rzepakowych stwierdził Pethukov [11]. Najniższą liczbą nadtlenkową podczas przechowywania charakteryzowały się czipsy smażone w uwodornionym oleju rzepakowym. Warunki przechowywania są równie istotnym elementem wpływającym na tempo utleniania tłuszczów. Wyższa temperatura oraz wilgotność powietrza podczas przechowywania w szafie klimatyzacyjnej przyspieszyły tempo tworzenia nadtlenków. Na tworzenie nadtlenków duży wpływ ma również rodzaj opakowania oraz dostęp światła. Pengioli i wsp. [10] stwierdzili ponad 3-krotnie wyższe tempo tworzenia nadtlenków w czipsach przechowywanych w pomieszczeniu oświetlonym w porównaniu z przechowywaniem w warunkach bez dostępu światła.

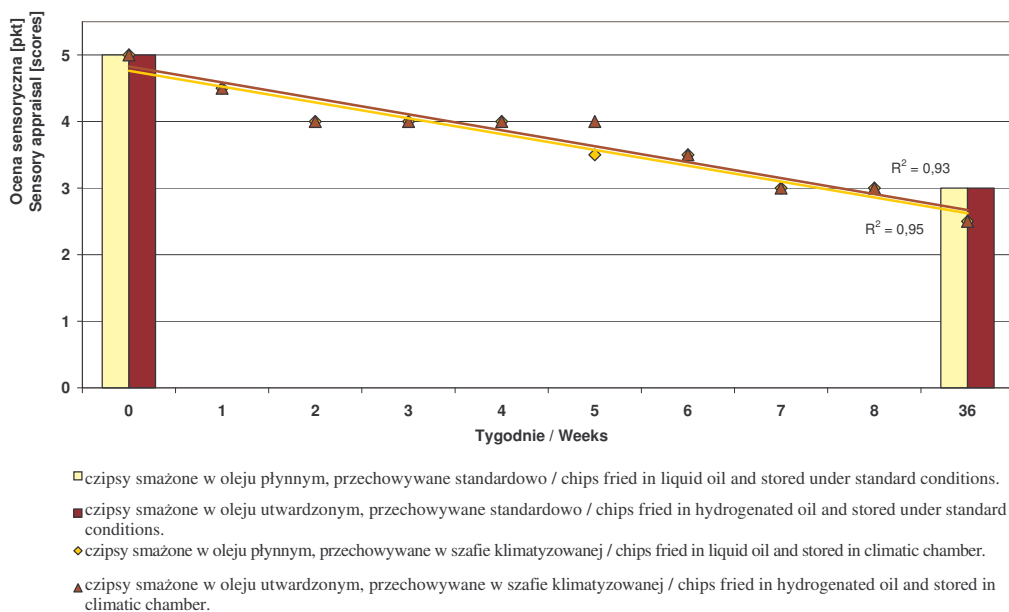


- czipsy smażone w oleju płynnym, przechowywane standardowo / chips fried in liquid oil and stored under standard conditions.
- czipsy smażone w oleju utwardzonym, przechowywane standardowo / chips fried in hydrogenated oil and stored under standard conditions.
- ◆ czipsy smażone w oleju płynnym, przechowywane w szafie klimatyzowanej / chips fried in liquid oil and stored in climatic chamber.
- ▲ czipsy smażone w oleju utwardzonym, przechowywane w szafie klimatyzowanej / chips fried in hydrogenated oil and stored in climatic chamber.

Rys. 3. Zmiany liczby Lea tłuszczu wyekstrahowanego z czipsów smażonych w płynnym i utwardzonym oleju palmowym, przechowywanych w szafie klimatyzacyjnej (0-9 tygodni) i standardowo (36 tygodni).

Fig. 3. Changes in the Lea value of fat extracted from chips fried in liquid and hydrogenated palm oil, and, then, stored in climatic chamber (0-9 weeks) and under standard conditions (36 weeks).

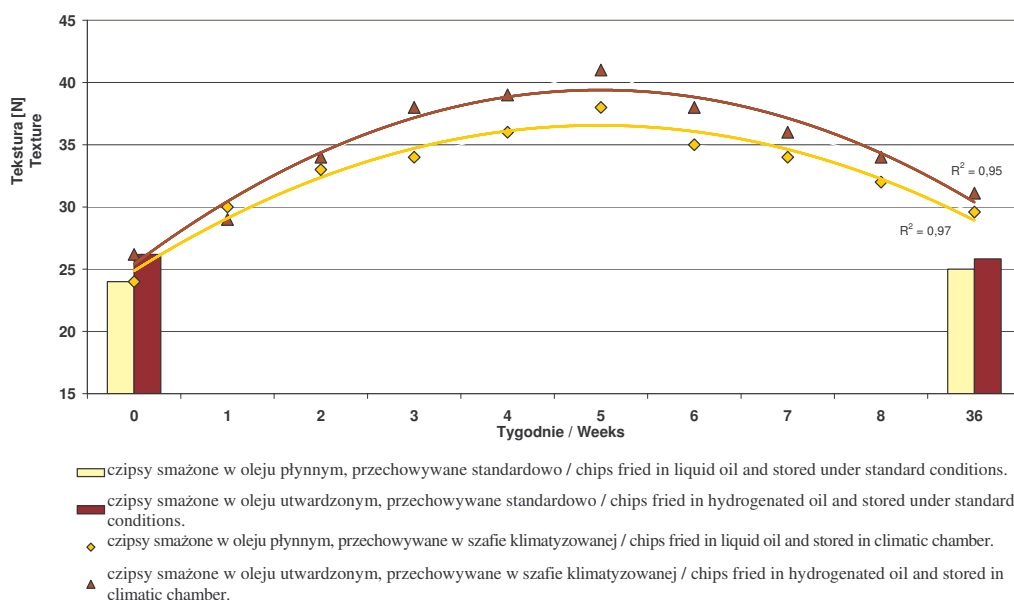
Przemiany zachodzące w tłuszczu oraz zmiany wilgotności przechowywanych produktów bezpośrednio wpływały na ich cechy sensoryczne (rys. 4). Czipsy bezpośrednio po wyprodukowaniu, niezależnie od rodzaju użytego oleju, charakteryzowały się odpowiednią barwą, smakiem, zapachem i konsystencją. W kolejnych tygodniach przechowywania stwierdzono stopniowe obniżanie jakości sensorycznej czipsów, które po 9 tygodniach przechowywania w temp. 45°C i wilgotności 80% (szafa klimatyzacyjna) oceniono na poziomie 2,7 pkt, natomiast po 36 tygodniach przechowywania w warunkach standardowych – 3 pkt. Niższa ocena czipsów przechowywanych w szafie klimatyzacyjnej związana była przede wszystkim z ich gorszą konsystencją.



Rys. 4. Ogólna ocena sensoryczna czipsów smażonych w płynnym i utwardzonym oleju palmowym, przechowywanych w szafie klimatyzacyjnej (0-9 tygodni) i standardowo (36 tygodni) - punkty 1-5.

Fig. 4. General appraisal of chips fried in liquid and hydrogenated palm oil, and, then, stored in climatic chamber (0-9 weeks) and under standard conditions (36 weeks) - scores 1-5.

W kolejnych tygodniach przechowywania czipsy stawały się twardsze, po czym ich twardość zaczęła się zmniejszać, lecz czipsy utraciły swą charakterystyczną chrupkość (rys. 5). Na kształtowanie konsystencji czipsów wpływał rodzaj oleju, a przede wszystkim zawartość wody. Czipsy smażone w oleju utwardzonym były twardsze (27 N) od czipsów smażonych w oleju płynnym (25 N). Z kolei początkowy wzrost wilgotności produktów chrupkich powodował wzrost ich twardości. Podczas klasycznego przechowywania, gdy wilgotność czipsów w kolejnych tygodniach wzrastała do około 3%, obserwowano tylko ten etap zmiany konsystencji [5]. Przechowywanie w szafie klimatyzacyjnej spowodowało wyższy wzrost wilgotności analizowanych produktów.



Rys. 5. Zmiany konsystencji czipsów smażonych w płynnym i utwardzonym oleju palmowym, przechowywanych w szafie klimatyzacyjnej (0-9 tygodni) i standardowo (36 tygodni) - pomiar instrumentalny przy użyciu aparatu typu Instron 5544.

Fig. 5. Texture changes of chips fried in liquid and hydrogenated palm oil, and, then, stored in climatic chamber (0-9 weeks) and under the standard conditions (36 weeks).

Wzrost twardości obserwowano do 5. tygodnia przechowywania, kiedy czipsy osiągnęły wilgotność około 4%. W kolejnych tygodniach przechowywania czipsów, pomimo dalszego wzrostu wilgotności, obserwowano utratę chrupkości i zmniejszenie twardości.

Wnioski

1. Czipsy smażone w oleju utwardzonym zawierały więcej tłuszczu i charakteryzowały się twardszą konsystencją niż smażone w oleju płynnym.
2. Wilgotność czipsów przechowywanych w warunkach o podwyższonej temperaturze (45°C) i wilgotności względnej powietrza (80%) wzrastała dwukrotnie szybciej niż czipsów przechowywanych w warunkach standardowych (20°C, 50% wilgotności).
3. Tłuszcz wyekstrahowany z czipsów smażonych w oleju płynnym (bezpośrednio po ich wyprodukowaniu) charakteryzował się niższą LK i wyższą liczbą Lea niż tłuszcz z czipsów smażonych w oleju utwardzonym.
4. Wyższą stabilnością oksydacyjną charakteryzowały się czipsy smażone w tłuszczu utwardzonym.
5. Przechowywanie w trybie przyspieszonym (9 tygodni w temp. 45°C i wilgotności 80%) pozwala wyznaczyć tempo przemian produktów przechowywanych w warunkach standardowych (36 tygodni w temp. 20°C i wilgotności 50%).

Praca wykonana w ramach projektu badawczego KBN nr 3 P06 T 044 23.

Literatura

- [1] Hawrysh Z.J., Erin M.K., Kim S., Hardin R.T.: Quality and stability of potato chips fried in canola, partially hydrogenated canola, soybean, and cottonseed oils. *J. Food Quality*, 1996, **2/19**, 107-120.
- [2] Jonnalagadda P.R., Bhat R., Sudershan R.V., Nadamuni Naidu A.: Suitability of chemical parameters in setting quality standards for deep-fried snacks. *Food Quality and Preference*, 2001, **12**, 223-228.
- [3] Kita A., Aniołowski K., Włodarczyk E.: Zmiany frakcji tłuszczowej w przechowywanych produktach przekąskowych. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2003 **2(35)**, 87-96.
- [4] Kita A., Michalski A., Lisińska G.: Changes of potato chips moisture by the logistic regression model in different kinds of chips storage. *Acta Agroph.*, 2003 (in press)
- [5] Kita A.: Factors affecting potato chips texture during storage. *Acta Agroph.*, 2002, **77**, 23-32.
- [6] Krełowska-Kułas M.: Badanie jakości produktów spożywczych. *PWE*, Warszawa 1993.
- [7] Lisińska G., Kita A., Tajner A., Moskal B.: Zmiany jakości czipsów ziemniaczanych podczas przechowywania. *Zesz. Nauk. AR we Wrocławiu*, 1996, **305**, 79-89.
- [8] Melton S.L., Trigiano M.K., Penfield M.P., Yang R.: Potato chips fried in canola and/or cottonseed oil maintain high quality. *J. Food Sci.*, 1993, **5/58**, 1079-1083.
- [9] Min D.B., Schweizer D.Q.: Lipid oxidation in potato chips. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 1983, **60**, 1662-1665.
- [10] Pangnoli P., Melton S.L., Collins J.L., Penfield M.P., Saxton A.M.: Flavor and storage stability of potato chips fried in cottonseed and sunflower oil and palm olein/sunflower oil blends. *J. Food Sci.*, 2002, **1/67**, 97-103.
- [11] Pethukov I., Malcolmson L.J., Przybylski R., Armstrong L.: Storage stability of potato chips fried in genetically modified canola oils. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 1999, **76**, 889-896.
- [12] PN-A-74780:1996. Przetwory ziemniaczane. Smażone przekąski ziemniaczane

- [13] Rani M., Chauchan G.S.: Effect of intermittent frying and frying medium on the quality of potato chips. *Food Chemistry*, 1995, **4/54**, 365-368.
- [14] Vorela G., Bender A.E., Morton I.D.: *Frying of Food*. Ellis Horwood Ltd., Chichester 1988.
- [15] Warner K., Orr P., Glynn M.: Effect of fatty acid composition of oils on flavor and stability of fried foods. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 1997, **4/74**, 347-356.
- [16] Warner K., Orr P., Parrot L., Glynn M.: Effects of frying oil composition on potato chips stability. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 1994, **10/71**, 1117-1121.

TYPES OF FRYING OILS AND THEIR IMPACT ON THE SENSORY PROPERTIES OF POTATO CHIPS DURING THEIR STORAGE

S u m m a r y

The objective of the paper was a comparison between the quality of potato chips fried in two types of oil, packed in aluminum foil, and stored under the standard conditions (temperature 20°C, humidity 50%), and in a climatic chamber (temperature 45°C, humidity 80%). It was stated that chips fried in a hydrogenate palm oil contained more fat and showed a higher hardness than the chips fried in a liquid oil. During the storage, the chips' moisture increased irrespectively of the type of chips. The moisture of chips stored in the climatic chamber increased twice as quick as the moisture of chips stored under the standard conditions. The fat extracted from chips fried in a liquid oil, prior to their storage, showed a lower acid value and a higher 'Lea' value if compared with the fat extracted from chips fried in a hydrogenated palm oil. Chips fried in a hydrogenated fat had also a higher oxidative stability. Irrespectively of the type of fat used (liquid or hydrogenated), there were determined no changes in the acid value of the fat extracted from chips stored under the standard conditions, however, it was found that the Lea value increased in the fat from chips stored in the climatic chamber. The chips stored under the standard conditions for a period of 36 weeks, and in the climatic chamber for 9 weeks had a similar flavor and smell. The differences in their consistency were caused by a higher content of moisture in chips stored in the climatic chamber than in those stored under the standard conditions.

The testing results of chips stored in the climatic chamber (the so called short-term storage) allow for the determination of a scale and rate of deterioration processes in products stored under the standard conditions. The oxidative stability of chips is increased in chips fried in a hydrogenated oil, but, on the other hand, such chips absorb more fat.

Key words: potato chips, oil, quality, storage. ☒

JAROSŁAW KORUS, BOHDAN ACHREMOWICZ

ZASTOSOWANIE PREPARATÓW BŁONNIKOWYCH RÓŻNEGO POCHODZENIA JAKO DODATKÓW DO WYPIEKU CHLEBÓW BEZGLUTENOWYCH

Streszczenie

Celiakia jest chorobą polegającą na nietolerancji prolamin występujących w pszenicy, życie, owsie i jęczmieniu. Specjalna żywność dla osób cierpiących na tę chorobę jest uboga zarówno w składniki odżywcze, jak i błonnik.

W pracy zastosowano przemysłowe preparaty błonnikowe z pomidorów, jabłek i Psyllium (*Plantago ovata*), które dodawano do chleba bezglutenowego w ilości 5; 7,5 oraz 10% w celu jego wzbogacenia w ten składnik.

W badanym pieczywie zawartość błonnika pokarmowego wzrosła o 190 – 450% w stosunku do chleba kontrolnego. Najkorzystniejszy pod względem wzbogacenia pieczywa w błonnik i wpływu na jakość chlebów okazał się dodatek preparatu z jabłek (VITACEL AF) oraz drobnoziarnistego preparatu z pomidorów (VITACEL TF 200). Dodatek preparatów błonnikowych do chleba bezglutenowego wpłynął na zmniejszenie twardości miększa podczas 4 dni przechowywania, a wpływ na pozostałe cechy profilu tekstury był zróżnicowany i nie zawsze korzystny.

Słowa kluczowe: chleb bezglutenowy, błonnik, wzbogacanie, wskaźniki technologiczne.

Wprowadzenie

Celiakia (gluteno zależna choroba trzewna, enteropatia glutenowa) jest chorobą polegającą na zaburzeniach funkcji trawiennej jelit występującej pod wpływem glutenu. U chorego na celiakię po spożyciu produktów zawierających gluten występują typowe objawy związane z zaburzeniem trawienia, a w dłuższym czasie następuje zanik kosmków jelitowych [1, 2, 9]. Czynnikiem wywołującym tę chorobę są prolaminy, będące składnikiem glutenu pszennego (gliadyna), ale występujące także w białku żyta (sekalina), jęczmienia (hordeina) i owsa (awenina), chociaż w tym ostatnim przypadku można spotkać różne opinie na temat szkodliwości prolamin owsa dla chorych na celiakię [1, 2, 6, 12]. Leczenie celiakii polega na zachowaniu diety

pozbawionej składników żywności działających toksycznie na śluzówkę jelita (lub ubogiej w te składniki) [1, 2, 6]. Na rynku dostępny jest asortyment produktów dla ludzi chorych na celiakię, obejmujący pieczywo, makarony, wyroby cukiernicze i koncentraty spożywcze. Produkty dla tej grupy osób oparte są głównie na skrobi różnego pochodzenia botanicznego, mące kukurydzianej, ryżowej, sojowej, gryczanej [2, 5]. Mają one dużo niższą wartość żywieniową niż ich odpowiedniki produkowane z konwencjonalnych surowców. Zawierają bowiem mniej składników odżywczych, jak białka, witaminy, składniki mineralne, a także niezbędnego do prawidłowego funkcjonowania przewodu pokarmowego błonnika.

Dlatego poszukuje się nowych receptur i technologii umożliwiających zwiększenie wartości żywieniowej produktów bezglutenowych.

Celem podjętych badań było opracowanie receptur chleba bezglutenowego o podwyższonej zawartości błonnika pokarmowego.

Materiał i metody badań

Materiałem badawczym były następujące preparaty błonnikowe: Psyllium (z nasion i łusek *Plantago psyllium*, *Plantago ovata* z rodziny babkowatych; rośliny te są bogate w śluzę, zawierają składniki wiążące duże ilości wody; zmielone nasiona i łuski stosowane są np. w różnych preparatach do odchudzania), jabłek – VITACEL AF 400, pomidorów – VITACEL TF 10 (wielkość cząstek < 2 mm) i VITACEL TF 200 (wielkość 90% cząstek < 200 μm). Materiałem badawczym były także chleby bezglutenowe otrzymane według następującej receptury: skrobia kukurydziana 480 g, skrobia ziemniaczana 120 g, guma guar 10,53 g, pektyna 10,53 g, drożdże liofilizowane 30 g, cukier 18 g, sól 12,6 g, olej 18 g, woda 600 cm³ (wyjątkiem były chleby z dodatkiem Psyllium, w których ilość wody zwiększono do 800 cm³). Odpowiednią ilość skrobi (5%, 7,5% lub 10%) zastępowano preparatami błonnikowymi, które pochodziły z firmy Rettenmaier Polska. Pozostałe składniki zakupiono w sklepach detalicznych. Ciasto sporządzano metodą jednofazową, czas mieszenia wynosił 12 min. Następnie 250 g ciasta nakładano do form i poddawano fermentacji w temp. 40°C przez 30 min. Wypiek prowadzono w temp. 230°C przez 30 min. Ochłodzone chleby przechowywano w woreczkach foliowych przez 4 dni, w temp. pokojowej (22±2°C), przy wilgotności względnej powietrza 64%. Chleby wypiekano w 2 równoległych powtórzeniach, po 4 sztuki w każdym powtórzeniu.

Po 2, 24, 48 i 72 godz. od wypieku oznaczano profil tekstury miękkiszu chlebów, stosując analizator TX-XTA z oprogramowaniem XTR-1. W badanych chlebach oznaczano zawartość błonnika pokarmowego metodą Hellendoorna [11]. W dniu wypieku przeprowadzano ocenę sensoryczną chlebów metodą punktową, w oparciu o PN-89/A-74108 [10]. Ocenę przeprowadzał 5-osobowy zespół o sprawdzonej wrażliwości sensorycznej i przeszkolony w ocenie pieczywa.

Uzyskane wyniki poddano analizie statystycznej przy użyciu testu F-Snedecora i t-Studenta. Najmniejszą istotną różnicę (NIR) obliczano na poziomie $p=0,01$.

Wyniki i dyskusja

Podstawowe wskaźniki technologiczne ciast i chlebów bezglutenowych przedstawiono w tab. 1.

Tabela 1

Wpływ stosowanych preparatów błonnikowych na wskaźniki technologiczne ciast i chlebów bezglutenowych.

The effect of additives applied on technological values of gluten-free dough and bread.

| Rodzaj i wielkość dodatku Type and amount of additives [%] | Wydajność ciasta Dough yield [%] | Wydajność pieczywa Bread yield [%] | Strata piecowa Oven loss [%] | Strata wypiekowa całkowita Total baked loss [%] | Objętość chleba Loaf volume [cm ³] | |
|--|--|--|------------------------------------|---|--|-----|
| Wzorzec / Standard | 204 | 161 | 15,0 | 16,2 | 642 | |
| Psyllium Psyllium | 5 | 236 | 186 | 15,6 | 17,8 | 655 |
| | 7,5 | 238 | 188 | 16,2 | 18,4 | 647 |
| | 10 | 239 | 188 | 16,9 | 19,2 | 635 |
| Błonnik jabłkowy Apple fiber | 5 | 206 | 167 | 15,0 | 16,1 | 632 |
| | 7,5 | 206 | 167 | 13,0 | 15,5 | 632 |
| | 10 | 208 | 169 | 15,0 | 16,2 | 628 |
| Błonnik pomidorowy TF10 Tomato fiber TF10 | 5 | 205 | 163 | 13,5 | 16,0 | 656 |
| | 7,5 | 205 | 165 | 13,5 | 15,7 | 656 |
| | 10 | 206 | 165 | 14,7 | 16,0 | 620 |
| Błonnik pomidorowy TF200 Tomato fiber TF200 | 5 | 205 | 165 | 13,7 | 15,7 | 655 |
| | 7,5 | 207 | 166 | 13,2 | 15,0 | 632 |
| | 10 | 208 | 168 | 13,2 | 15,2 | 610 |
| NIR $\alpha=0,01$ LSD $p=001$ | 12,4 | 8,3 | 0,88 | 0,73 | 7,9 | |

Zastosowane dodatki wpłynęły na zwiększenie wydajności ciasta o 0,5–2,0%, za wyjątkiem Psyllium, którego dodatek, ze względu na większą wodochłonność tego preparatu, zwiększył wydajność o 15,7–17,1%. Podobny był wpływ preparatów na wydajność pieczywa. Wzrosła ona o 0,8–4,6%, a przy dodatku Psyllium o 12,9–16,7%. Straty: piecowa i całkowita w badanych chlebach z dodatkami, w porównaniu z chlebem kontrolnym, były niższe w zależności od dodanego preparatu o 0,3–2% (strata

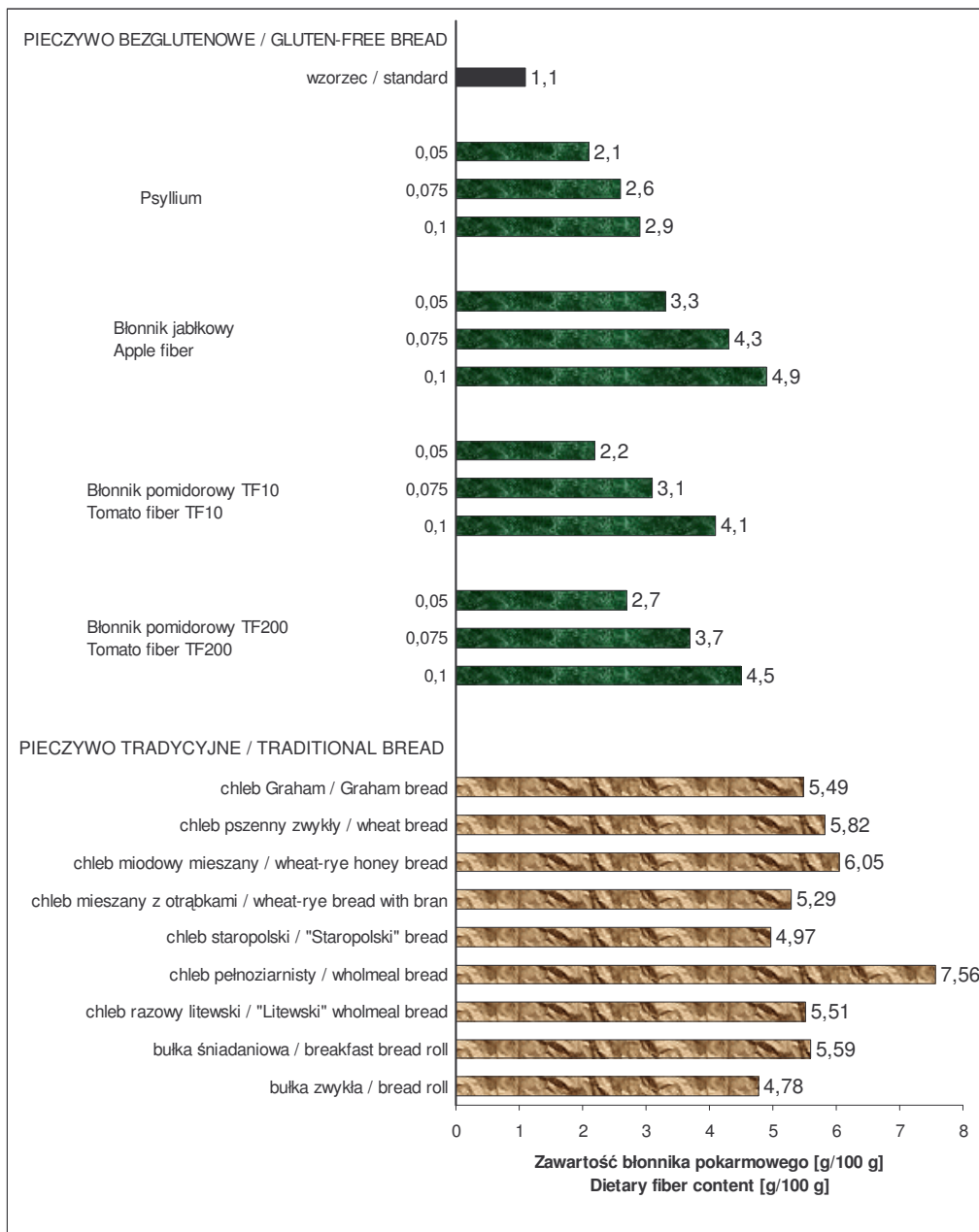
piecowa) i o 0,1–1,2% (strata całkowita). Wyjątkiem były chleby z dodatkiem Psyllium, w których wartości obu tych wskaźników kształtowały się na wyższym poziomie niż w chlebie kontrolnym: o 0,6–1,9% w przypadku straty piecowej i o 1,6–3,0% w przypadku straty wypiekowej całkowitej. Wpływ na to miała wyższa wodochłonność preparatu z Psyllium, która zwiększyła wydajność ciasta i pieczywa, ale równocześnie zwiększony dodatek wody do ciasta był także przyczyną odparowania większej jej ilości, co w konsekwencji spowodowało wzrost strat piecowej i wypiekowej całkowitej.

Wpływ poszczególnych preparatów na objętość chlebów był w większości przypadków statystycznie istotny. Pomimo tego różnice w objętości były niewielkie (tab. 1). Niewielki wzrost objętości chleba zanotowano stosując dodatek 5 i 7,5% Psyllium (odpowiednio o 1,9% i 0,8% w stosunku do chleba kontrolnego), 5 i 7,5% błonnika pomidorowego TF 10 (2,2%) oraz 5% preparatu TF 200 (1,9%). Natomiast w pozostałych przypadkach odnotowano obniżenie objętości w zakresie od 1,2% (10% Psyllium) do 5,0% (10% preparatu TF 200).

Zawartość błonnika pokarmowego w 100 g chleba wzrosła z poziomu 1,1 g w chlebie kontrolnym (bez dodatków) do 2,1 g w chlebie z dodatkiem 5% Psyllium i 4,9 g w chlebie z 10% dodatkiem błonnika jabłkowego, tj. o 190–450% (rys. 1). Porównując zawartość błonnika pokarmowego w badanych chlebach z zawartością w tradycyjnym pieczywie można stwierdzić, że przy dodatku 7,5% preparatu jabłkowego oraz 10% preparatu TF 200 uzyskano zawartość błonnika porównywalną z bułką zwykłą (4,78 g/100 g). Nieco mniejszą ilość błonnika zawierał chleb z 10% dodatkiem preparatu TF 10 (rys. 1). Natomiast chleb z 10% dodatkiem błonnika jabłkowego zawierał 4,9 g błonnika pokarmowego w 100 g, co jest wartością zbliżoną do chleba staropolskiego. Ilość błonnika w pozostałych chlebach była o około połowę mniejsza w porównaniu z pieczywem zwykłym.

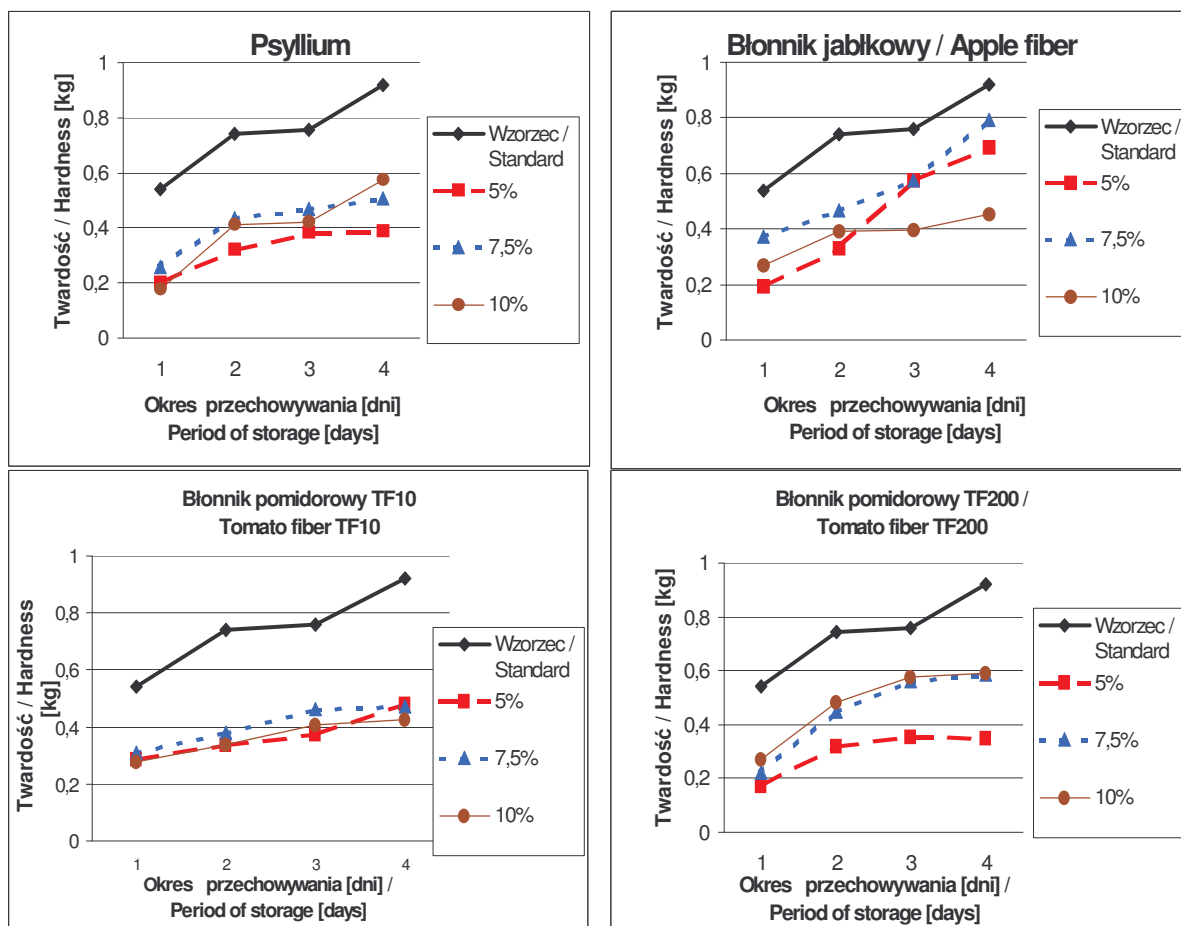
Należy zaznaczyć, że istnieje wiele metod oznaczania błonnika pokarmowego, a wyniki otrzymane za ich pomocą różnią się między sobą [3, 4, 7, 8]. Zawartość błonnika pokarmowego w pieczywie bezglutenowym i tradycyjnym porównano z wynikami Bulińskiego i Szydłowskiej [4], którzy oznaczali ten składnik w pieczywie tradycyjnym metodą Hellendoorna, czyli taką samą, jaka została zastosowana w niniejszej pracy.

Oznaczając profil tekstury wykazano, że podstawowa cecha świadcząca o



Rys. 1. Zawartość błonnika pokarmowego w badanych chlebach bezglutenowych w porównaniu z pieczywem tradycyjnym [4].

Fig. 1. Dietary fiber content in gluten-free breads under investigations compared with its content in traditional breads [4].



Rys. 2. Wpływ preparatów błonnikowych na twardość miększu badanych chlebów bezglutenowych.
 Fig. 2. The effect of fiber additives on the hardness of gluten-free breads' crumbs.

świeżości pieczywa – twardość miększu – była we wszystkich chlebach z dodatkami niższa, w porównaniu z chlebem kontrolnym, zarówno w dniu wypieku, jak i podczas całego okresu przechowywania (rys. 2). Miększ chlebów bezglutenowych ulega szybkiemu twardnieniu ze względu na większą niż w zwykłych chlebach zawartość skrobi, której składniki – amyloza i amylopektyna – ulegają retrogradacji. W dniu wypieku twardość miększu chlebów z dodatkiem Psyllium była niższa o 52,5–67,0% w stosunku do chleba kontrolnego, chlebów z błonnikiem jabłkowym o 30,5–64,2%, z błonnikiem pomidorowym TF 10 o 42,9–48,8% i z preparatem TF 200 o 49,6–68,5%. W trakcie przechowywania twardość miększu chlebów wzrastała i w czwartym dniu wartości tej cechy były, w porównaniu z chlebem kontrolnym, niższe o 37,4–57,7% w

chlebach z dodatkiem Psyllium, o 13,8–51,0% w chlebach z błonnikiem jabłkowym, o 47,8–53,7% przy dodatku preparatu TF 10 i o 36,0–61,7% przy zastosowaniu TF 200.

W większości przypadków, w dniu wypieku miękisz badanych chlebów charakteryzował się lepszą spójnością w porównaniu z chlebem bez dodatków (o 8,2–50,1%). Wyjątkiem były chleby z 5% dodatkiem Psyllium i 10% dodatkiem preparatu TF 200. Natomiast w ostatnim dniu przechowywania lepszą spójnością od chleba kontrolnego wyróżniały się tylko chleby z 5 i 10% dodatkiem Psyllium (1,2–15,7%), zaś wartość tej cechy w pozostałych chlebach była o 1,6–23,0% niższa niż w chlebie bez dodatków.

Stosowane preparaty, podczas całego okresu badań, wpłynęły na obniżenie gumowatości i żujności miękiszu chlebów z ich udziałem. Nie zaobserwowano natomiast jednoznacznego wpływu na elastyczność i sprężystość miękiszu chlebów. W dniu wypieku wartości tych cech kształtowały się korzystniej w chlebach z dodatkami, ale w trakcie przechowywania obniżały się do wartości porównywalnych z wartościami w chlebie kontrolnym.

Wypieczone chleby poddano także ocenie sensorycznej, w wyniku której większość z nich została zaliczona do I klasy jakościowej. Natomiast do II zakwalifikowano chleby z dodatkiem Psyllium, które (zwłaszcza w dawkach 7,5% oraz 10%) powodowało różowe zabarwienie miękiszu oraz chleby z preparatem TF10, na co wpłynęła gruboziarnista granulacja tego preparatu, co nie było akceptowane przez wszystkich konsumentów. Natomiast korzystnie zostały ocenione w badanych chlebach wygląd zewnętrzny, elastyczność miękiszu oraz smak i zapach.

Wnioski

1. Dodatek 5 i 7,5% Psyllium oraz błonnika pomidorowego TF 10, jak również 5% błonnika pomidorowego TF 200 do chlebów bezglutenowych spowodował wzrost ich objętości, a pozostałe dawki wymienionych preparatów i preparat błonnika jabłkowego we wszystkich dawkach spowodowały zmniejszenie objętości.
2. W badanym pieczywie bezglutenowym istotnie wzrosła zawartość błonnika pokarmowego, o 190 – 450% w stosunku do chleba kontrolnego.
3. Najkorzystniejszy pod względem jakości i wzbogacenia pieczywa w błonnik okazał się dodatek preparatu jabłkowego VITACEL AF i pomidorowego VITACEL TF 200.
4. Dodatek preparatów błonnikowych do chleba bezglutenowego wpłynął na zmniejszenie twardości miękiszu podczas 4 dni przechowywania, a wpływ na pozostałe cechy profilu tekstury był zróżnicowany i nie zawsze korzystny.

Literatura

- [1] Bartnik M.: Nietolerancja glutenu. *Przem. Spoż.*, 1999, **7**, 33-34.
- [2] Bartnikowska E.: Celiakia choroba spowodowana spożywaniem przetworów zbożowych zawierających gluten. *Przegl. Piek. Cuk.*, 2001, **9**, 16-20.
- [3] Borawska M., Omieljaniuk N., Markiewicz R., Witkowska A.: Zawartość błonnika pokarmowego całkowitego w wybranym pieczywie. *Brom. Chem. Toksykol.*, 1995, **28(1)**, 25-28.
- [4] Buliński R., Szydłowska E.: Badania zawartości błonnika pokarmowego w krajowych produktach spożywczych. Cz. I Zawartość błonnika pokarmowego w zbożach, mąkach i pieczywie. *Roczn. PZH*, 1983, **2**, 153-159.
- [5] Cicha U.: Pieczywo dietetyczne i jego rola w żywieniu człowieka. *Przegl. Piek. i Cuk.*, 2001, **8**, 16-19.
- [6] Dahinden I., Büren M., Lüthy J.: A quantitative competitive PCR system to detect contamination of wheat, barley or rye in gluten-free food for coeliac patients. *Eur. Food Res. Technol.*, 2001, **212**, 228-233.
- [7] Gronowska-Senger A., Drywień M., Nowierska B.: Porównanie wybranych enzymatycznych metod oznaczania błonnika pokarmowego w żywności. *Roczn. PZH*, 1992, **2**, 187-192.
- [8] Łoś-Kuczera M.: Ocena zawartości błonnika pokarmowego w wybranych produktach spożywczych. *Przem. Spoż.*, 1990, **4-5**, 111-112.
- [9] Magalotti D., Volta U., Bonfiglioli A., Ramilli S., Berzigotti A., Zoli M.: Splanchnic haemodynamics in patients with celiac disease: effects of a gluten-free diet. *Digestive and Liver Disease*, 2003, **35**, 262-268.
- [10] PN-89/A-74108. Pieczywo. Metody badań i ocena punktowa.
- [11] Rutkowska U.: Wybrane metody badania składu i wartości odżywczej żywności, PZWL, Warszawa 1981.
- [12] Wieser H.: Comparative investigations of gluten proteins from different wheat species. III. N-terminal amino acid sequences of α -gliadins potentially toxic for coeliac patients. *Eur. Food Res. Technol.*, 2001, **213**, 183-186.

FIBER PREPARATIONS OF DIFFERENT ORIGIN USED AS ADDITIVES IN BAKING GLUTEN-FREE BREADS

S u m m a r y

Coeliac disease is the intolerance of prolamine from wheat, rye, oat and barley. The special food for people suffering from coeliac disease contains too low quantities of both the necessary nutrients and dietary fiber. For the purpose of the investigations as described in this paper, fiber preparations of apples, tomatoes, and Psyllium (*Plantago ovata*) were added to a gluten-free bread to enrich it by fiber; the portions of additives equaled 5%, 7.5%, and 10%.

It was stated that the dietary fiber content in bread loaves was 190% to 450% higher compared with the standard 'control' bread. A preparation made of apples (VITACEL AF) and a fine granulated tomato preparation (VITACEL TF 200) were determined the factors influencing this parameter and, generally, bread quality in the most favorable way. Thanks to all fiber containing additives, the bread crumbs investigated became less hard and remained less hard during a 4-day period of storage. However, the effect of these additives on other parameters and qualities of texture profiles varied, moreover, this effect was not always favorable.

Key words: gluten-free bread, fiber, enrichment, technological values ☒

MIROŚLAW ŻMIJEWSKI

WARTOŚĆ TECHNOLOGICZNA ZIARNA ODMIAN PSZENICY JAREJ UPRAWIANEJ W SIEWIE CZYSTYM I MIESZANYM ORAZ PRZY STOSOWANIU FUNGICYDÓW

Streszczenie

Materiałem badawczym było ziarno i mąka czterech odmian pszenicy jarej, uprawianej w siewie czystym i mieszany, ze zbioru z trzech kolejnych lat. Badanymi odmianami były: Omega, Igna, Henika, Banti oraz ich mieszaniny: Omega+Igna+Henika i Omega+Igna+Banti. Omega i Igna należą do odmian wrażliwych na grzyby patogeniczne w przeciwieństwie do odmian Henika i Banti. Pszenicę uprawiano z zastosowaniem i bez zastosowania ochrony fungicydowej.

Wykazano, że cechy genetyczne odmian wpłynęły na jakość technologiczną mieszanin. Niska szklistość ziarna odmiany Banti i wysoki wskaźnik sedymentacji mąki z niego uzyskanej (28%, 40,0 cm³) oddziaływały na wartości tych wyróżników w mieszaninie Omega+Igna+Banti (62%, 39,0 cm³). Duża wydajność i rozplýwalność glutenu mąki uzyskanej z ziarna odmiany Henika (36,4 %, 12 mm) przyczyniły się do uzyskania wyższych wartości wymienionych cech mieszaniny Omega+Igna+Henika (36,2%, 8 mm), w porównaniu z odmianami Omega (35,1%, 7 mm) i Igna (33,8%, 6 mm).

Stosowanie fungicydów w uprawie pszenicy wpłynęło korzystnie na większość cech fizycznych ziarna oraz na wydajność mąki ogółem, ale równocześnie spowodowało zmniejszenie zawartości białka ogółem w mące, jak również pogorszenie objętości i porowatości miękiszu chleba.

Słowa kluczowe: pszenica, ziarno, mieszaniny odmianowe, fungicydy, jakość.

Wstęp

W Polsce, straty w plonach, wynikające z porażenia roślin przez grzyby, utrzymują się na poziomie około 30%. W zapobieganiu tym stratom należy stosować środki ochrony roślin w postaci fungicydów, których zadaniem jest redukcja ilości grzybów „polowych” [7, 10, 11, 23]. Porażenie ziarna przez grzyby jest nie tylko czynnikiem obniżającym wartość rolniczą i technologiczną. Ważny jest tu również aspekt zdro-

wotny żywienia ludzi i zwierząt [9]. Alternatywnym rozwiązaniem stosowania chemicznych środków ochrony roślin może stać się uprawa mieszanin odmian jednego gatunku zbóż. Sposób ten polega na uprawianiu w jednym łanie odmian odpornych i wrażliwych na czynniki chorobotwórcze, jakimi są grzyby. Mieszaniny odmianowe zazwyczaj lepiej i stabilniej plonują niż w uprawach monolitycznych, są bardziej odporne na wyleganie oraz rzadziej są atakowane przez grzyby [5].

W dostępnej literaturze niewiele jest doniesień naukowych informujących o badaniach dotyczących wartości technologicznej ziarna odmian pszenicy uprawianych w formie mieszanin odmianowych. Celowe jest określenie jakości ziarna otrzymanego z takiego sposobu siewu. Ponadto celem pracy było również określenie wpływu stosowania fungicydów w uprawie pszenicy jarej na jakość ziarna.

Material i metody badań

Material badawczy stanowiło ziarno i mąka czterech odmian pszenicy jarej, uprawianej w siewie czystym i mieszanym, ze zbioru w latach 1996–1998. Badanymi odmianami były: Omega, Igna, Henika, Banti oraz ich mieszaniny: Omega+Igna+Henika i Omega+Igna+Banti, zmieszane przed siewem w równych ilościach. Omega i Igna należą do odmian wrażliwych na porażenie przez grzyby w przeciwieństwie do odmian Henika i Banti. Ziarno pochodziło ze ścisłych doświadczeń polowych, realizowanych przez Katedrę Szczegółowej Uprawy Roślin AR we Wrocławiu, w Rolniczym Zakładzie Doświadczalnym w Pawłowicach. Pszenicę uprawiano z zastosowaniem i bez zastosowania ochrony fungicydowej.

Badany material oceniano na podstawie cech fizycznych ziarna, takich jak: gęstość ziarna w stanie zsypanym [16], szklistość pozorna ziarna [15] oraz celność i wyrównanie ziarna. Przemiał laboratoryjny wykonano posługując się młynem Quadrumat Senior. Zawartość białka ogółem w ziarnie i mące określano metodą Kjeldahla ($N \times 5,7$). W mące oznaczono również ilość i rozpuszczalność glutenu mokrego [17]. Do oznaczenia wskaźnika sedymentacji stosowano test Zeleny'ego [19]. Aktywność α -amylazy wyznaczono pośrednio za pomocą liczby opadania [18]. Chleb wypieczono metodą Biskupskiego [12]. Każdą cechę, z uwzględnieniem odmiany i mieszaniny odmianowej, oznaczono w dwóch powtórzeniach.

Uzyskane wyniki trzyletnich badań poddano analizie statystycznej. Wykonano jednokierunkową, trzyczynnikową (odmiany, ochrona fungicydowa, lata uprawy) analizę wariancji. Wartości średnie przeanalizowano testem Duncana przy $P = 0,95$.

Wyniki i dyskusja

Największą gęstością ziarna w stanie zsylnym odznaczała się odmiana Henika (79,33 kg/hl) (tab. 1). Wysokimi wartościami tej cechy charakteryzowały się również odmiany Omega i Igna oraz mieszanina z udziałem odmiany Henika. Odmiana Banti i mieszanina Omega+Igna+Banti miały niską masę objętościową (odpowiednio 75,32 kg/hl i 75,38 kg/hl). Ochrona fungicydowa wpływała korzystnie na omawianą cechę, podnosząc jej wartość, w stosunku do obiektów bez ochrony, z 75,77 do 77,32 kg/hl. Zależność ta nie znajduje potwierdzenia w badaniach innych autorów. Budzyński i wsp. [3] nie stwierdzili związku pomiędzy stosowanymi środkami grzybobójczymi a gęstością ziarna w stanie zsylnym. W roku 1998 otrzymano pszenice o największej masie objętościowej (78,85 kg/hl), na co wpływ miała zwarta, szklista konsystencja bielma. Gęstość ziarna pszenicy zebranego w 1996 r. była mniejsza o ponad 2 kg/hl (76,31 kg/hl). Ziarno to było najbardziej dorodne, ale odznaczało się niską szklistością. Najniższą masę objętościową miał materiał badawczy z 1997 r. (74,10 kg/hl), który charakteryzował się najgorszą celnością i mało zwartą strukturą bielma (szklistość – 61%).

Szklistość jest jedną z najważniejszych cech świadczących o wartości technologicznej ziarna. Na jej podstawie można wnioskować zarówno o przebiegu procesu przemiału, jak i jego efektach [8]. Ze szklistością wiąże się również zawartość białek glutenowych, a co za tym idzie wartość wypiekowa pszenicy [22]. Szklistość ziarna większości odmian i mieszanin zawierała się w przedziale od 62 do 83% (tab. 1). Wyjątek stanowiło ziarno odmiany Banti o szklistości 28%. Cechy genetyczne tej odmiany wpływały na obniżenie wartości omawianej cechy w mieszaninie Omega+Igna+Banti. W grupie o najwyższej szklistości było ziarno odmiany Henika i mieszanina Omega+Igna+Henika. Ochrona fungicydowa nie miała wpływu na omawianą cechę. Pszenice zebrane w latach 1996-1997 należy zaliczyć do półszklistych. W 1998 r. otrzymano ziarno o szklistości około 20% wyższej niż w latach poprzednich.

Celność określa wielkość i dorodność ziarna. Natomiast wyrównanie ziarna oznacza procentową zawartość ziaren o podobnych wymiarach. Cechy te są ważne w ocenie materiału siewnego, a także służą przy określeniu potencjalnej przydatności przemiałowej. Im wyższa wartość wyrównania, tym lepsze właściwości przemiałowe ziarna [4]. W dostępnej literaturze brak jest informacji o wpływie fungicydów na celność i wyrównanie ziarna. Przeprowadzone obecnie doświadczenia wykazały poprawę wartości wymienionych cech, przy stosowaniu w uprawie pszenicy środków grzybobójczych, odpowiednio o 4 i 3% (tab. 1). Wysoką celnością i wyrównaniem odznaczało się ziarno odmiany Banti (90%) i mieszaniny z jej udziałem (88%), a najniższą miało ziarno odmiany Henika (80 i 82%). Wpłynęło to na zmniejszenie wartości celności i

wyrównania ziarna w mieszaninie Omega+Igna+Henika, w stosunku do odmian Omega i Igna wchodzących w skład mieszaniny. W obecnych badaniach zaznaczył się znaczny wpływ warunków pogodowych na omawiane cechy. Najdorodniejsze i zarazem najbardziej wyrównane ziarno otrzymano ze zbiorów w roku 1996. Warunki pogodowe w tym roku wpłynęły korzystnie na wydłużenie okresu wegetacji oraz na wypełnienie i dojrzewanie ziarna [5]. Kolejny rok badań był mniej sprzyjający rozwojowi pszenicy. W porównaniu do poprzedniego roku było więcej dni pochmurnych, ale wystąpił mały niedobór wilgoci. Takie warunki pogodowe sprzyjały pojawianiu się chorób powodowanych przez grzyby [5]. Celność i wyrównanie ziarna były w omawianym roku najniższe.

Czynnik odmianowy nie miał wpływu na wydajność mąki śrutowej (tab. 1). Największą wydajność mąki wymiałowej i ogółem oraz wydajność i wymielność kaszek uzyskano z ziarna odmian Omega i Igna. Dodatkowo w grupie o najwyższej wydajności kaszek była również mieszanina Omega+Igna+Henika. Najniższą wartością wymienionych cech odznaczało się ziarno odmiany Banti. Ochrona fungicydowa wpływała korzystnie na wydajność mąki ogółem. Pozostałe cechy przemiałowe nie zależały od tego zabiegu agrotechnicznego. W badaniach Budzyńskiego i wsp. [3] środki grzybobójcze wpływały niejednakowo na cechy przemiałowe. Wpływ warunków pogodowych na cechy przemiałowe wyraził się wysoką jakością ziarna w roku 1996. W tym roku otrzymano największą średnią wydajność mąki ogółem.

Zawartość białka w ziarnie i w mące jest jednym z podstawowych wyróżników przy ocenie jakościowej pszenicy. Analiza wariancji nie wykazała różnic między badanymi odmianami i mieszaninami, pod względem zawartości białka w ziarnie (tab. 2). Również zawartość białka w mące badanych odmian i mieszanin odmianowych nie była zróżnicowana. W obecnych badaniach zabieg ochrony fungicydowej nie spowodował istotnych zmian ilości białka w ziarnie odmian pszenicy. Jednak mąka uzyskana z ziarna pszenicy uprawianej z zastosowaniem środków grzybobójczych zawierała mniej białka niż mąka otrzymana z pszenicy uprawianej bez ochrony fungicydowej. Stosowanie środków grzybobójczych w uprawie pszenicy może powodować zmiany zawartości białka ogółem w ziarnie. Dotychczasowe wyniki badań są jednak kontrowersyjne. Pristley i Bayls [20], Beyer i Kischowski [1], Zając i wsp. [25] oraz Cichy [6] donoszą o korzystnym działaniu fungicydów na sprawność aparatu asymilacyjnego, co przyczynia się ich zdaniem do wzrostu zawartości białka w ziarnie. Rachoń [21] nie wykazał w badaniach wpływu fungicydów na ilość tego składnika. W pracy Zająca i wsp. [24] środki grzybobójcze wpłynęły na spadek zawartości białka w ziarnie badanych odmianach, średnio o 2,5%.

Tabela 1

Wartości średnie cech fizycznych i przemiałowych ziarna pszenicy w zależności od odmian, ochrony fungicydowej i lat uprawy.
 Mean values of physical and milling properties of wheat grains depending on the varieties, fungicide protection and, cultivation years.

| Cecha Property Czynnik Factor | Gęstość ziarna w stanie zsypanym HL weight [kg/hl] | Szkliwość ziarna Glassiness of grain [%] | Celność ziarna Filling of grain [%] | Wyrówna- nie ziarna Uniformity of grain [%] | Wydajność / Yield [%] | | | | | Wymielenie kaszek Reduction of middlings [%] | | | | | | | |
|--|---|--|---|---|-------------------------------------|-------------------------------------|-------------------------------|------------------------|------------------------|--|-----|------|-----|------|-----|------|---|
| | | | | | mąki srurowej of broken flour | mąki wymiałowej of reduced flour | mąki ogółem of total flour | kaszek of middlings | kaszek of middlings | | | | | | | | |
| Odmiana Variety | O+I+H | 76,17 | b c | 85 | c | 33,0 | a | 31,6 | b c | 64,6 | b c | 38,4 | a b | 82,2 | b | | |
| | O+I+B | 75,38 | c d | 62 | c | 34,2 | a | 29,4 | d | 63,6 | c | 36,1 | c | 81,5 | b | | |
| | Omega | 76,02 | b c d | 73 | b | 32,3 | a | 32,9 | a b | 65,2 | a b | 39,6 | a | 83,0 | a b | | |
| | Ignia | 76,32 | b | 75 | b | 32,9 | a | 33,4 | a | 66,3 | a | 39,8 | a | 83,9 | a | | |
| | Henika | 79,33 | a | 83 | a | 33,3 | a | 30,0 | c d | 63,3 | c | 36,7 | b c | 81,8 | b | | |
| Banti | 75,32 | d | 28 | d | 90 | a | 34,8 | a | e | 60,1 | d | 32,5 | d | 77,8 | c | | |
| Ochrona fungicydowa Fungicidal protection | bez ochrony without protection | 75,77 | b | 66 | a | 84 | b | 33,2 | a | 30,2 | a | 63,4 | b | 36,9 | a | 81,6 | a |
| | z ochroną with protection | 77,07 | a | 67 | a | 88 | a | 33,7 | a | 30,6 | a | 64,3 | a | 37,4 | a | 81,8 | a |
| Lata uprawy Years of cultivation | 1996 | 76,31 | b | 60 | b | 92 | a | 35,5 | a | 33,0 | a | 68,5 | a | 40,3 | a | 81,8 | b |
| | 1997 | 74,1 | c | 61 | b | 79 | c | 32,4 | b | 30,6 | b | 63,0 | b | 36,7 | b | 83,5 | a |
| | 1998 | 78,85 | a | 79 | a | 88 | b | 32,4 | b | 27,6 | c | 60,0 | c | 34,6 | c | 79,8 | c |

Wartości średnie oznaczone małymi literami tworzą grupy jednorodnie wg testu Duncana (P = 0,95);

The mean values as designated by small letters form homogeneous groups according to a Duncan test (P = 0.95);

O+I+H – mieszanina odmianowa: Omega, Ignia i Henika / variety mix of Omega, Ignia, and Henika;

O+I+B – mieszanina odmianowa: Omega, Ignia i Banti / variety mix of Omega, Ignia, and Banti.

Ilość i jakość glutenu odgrywa ważną rolę w kształtowaniu wartości wypiekowej mąki pszennej. W obecnej pracy nie wykazano wpływu ochrony fungicydowej zarówno na wydajność, jak i na jakość glutenu mokrego (tab. 2). Oceniając odmiany stwierdzono, że wysoką wydajnością glutenu charakteryzowały się pszenice Banti (37,5%) i Henika (36,4%) oraz mieszanina Omega+Igna+Henika (36,2%). Jednak z mąki pszenicy Henika, w przeciwieństwie do Banti, otrzymano gluten o najwyższej rozpuszczalności. Ilość i jakość glutenu wymytego z pszenicy badanych prób, uzyskanych w różnych latach była zróżnicowana.

Liczba sedymentacji Zeleny'ego stosowana jest do oceny ilościowo-jakościowej białek glutenowych występujących w mące pszennej. Mąka o dużej zawartości glutenu dobrej jakości (glutenu „mocnego”) odznacza się wysokim wskaźnikiem sedymentacji [13].

Najwyższą liczbą sedymentacji charakteryzowała się odmiana Banti (40 cm³) (tab. 2). Cechy genetyczne tej pszenicy wpływały na poprawę omawianego wskaźnika w mieszaninie z jej udziałem w stosunku do odmian Omega i Igna. Najniższą liczbę sedymentacji miała mąka z ziarna odmiany Henika (33,0 cm³). Jednak nie wpłynęło to na wartość tego wyróżnika mieszaniny Omega+Igna+Henika, której wskaźnik sedymentacji był wyższy lub równy w porównaniu z dwoma pozostałymi odmianami wchodzącymi w skład mieszaniny. W badaniach Budzyńskiego [2] fungicydy spowodowały spadek omawianego wyróżnika jakościowego o 9%. W niniejszej pracy ochrona fungicydowa nie powodowała istotnych zmian wskaźnika sedymentacji. Ziarno uprawiane bez i z zastosowaniem środków grzybobójczych charakteryzowało się identycznymi wartościami tego wskaźnika.

Liczba opadania jest wyróżnikiem, który pośrednio informuje o aktywności enzymów amylolitycznych, a zwłaszcza α -amylaz. Zwiększona aktywność tych enzymów powoduje zbyt intensywny rozkład skrobi, co przyczynia się do spadku wartości wypiekowej mąki. Od aktywności amylaz zależy również ilość cukrów prostych, a co za tym idzie wytwarzanie gazu w cieście podczas fermentacji [14]. Prawie wszystkie badane odmiany i mieszaniny charakteryzowały się niską aktywnością α -amylazy, o czym świadczą wysokie wartości liczby opadania, od 320 do 360 s (tab. 2). Jedynie odmiana Banti o najniższej wartości omawianej cechy i mieszanina z jej udziałem należały do prób o średniej aktywności α -amylaz. Zastosowana ochrona fungicydowa nie wpłynęła istotnie na liczbę opadania. Budzyński [2] stosując w swoim doświadczeniu trzykrotnie oprysk środkami grzybobójczymi zanotował spadek liczby opadania o 16% w stosunku do prób niechronionych fungicydami.

Najlepszym sposobem określającym bezpośrednio wartość wypiekową mąki jest przeprowadzenie próbnego wypieku laboratoryjnego i ocena otrzymanego chleba [13].

Tabela 2

Wartości średnie cech wypiekowych mąki pszennej w zależności od odmian, ochrony fungicydowej i lat uprawy pszenicy.
 Mean values of wheat flour baking properties depending on the varieties, fungicide protection, and cultivation years.

| Czynnik Factor | Cecha Property | Białko ogółem Total protein [%] | | Gluten mokry Wet gluten [%] | Rozplywalność glutenu of gluten [mm] | Wskaźnik sedymantacji Sedimentation value [cm ³] | Liczba opadania Settling number [s] | Objętość chleba Bread volume [cm ³] | Porowatość miększu wg skali Dallmanna Porosity of the crumb according to Dallmann's scale | | | | | | | | |
|--|--|------------------------------------|--------------------|--------------------------------------|---|--|---|---|---|------|---|-----|-----|-----|---|---|---|
| | | w ziarnie in grain | w mące in flour | | | | | | | | | | | | | | |
| Odmiana Variety | O+I+H | 14,2 | a | 12,9 | a | 36,2 | a b | 8 | b | 35,0 | c | 337 | a | 576 | b | 5 | c |
| | O+I+B | 13,6 | a | 12,9 | a | 35,6 | b c | 6 | c | 39,0 | b | 259 | b | 612 | a | 5 | c |
| | Omega | 13,4 | a | 13,0 | a | 35,1 | b c | 7 | c | 34,5 | d | 360 | a | 569 | b | 5 | c |
| | Igna | 13,9 | a | 12,8 | a | 33,8 | c | 6 | c | 36,0 | c | 320 | a | 576 | b | 5 | c |
| | Henika | 13,7 | a | 12,9 | a | 36,4 | a b | 12 | a | 33,0 | e | 344 | a | 532 | c | 7 | a |
| | Banti | 13,9 | a | 12,7 | a | 37,5 | a | 7 | c | 40,0 | a | 211 | c | 535 | c | 6 | b |
| Ochrona fungicydowa Fungicidal protection | bez ochrony without protection z ochroną with protection | 13,9 | a | 13,1 | a | 36,1 | a | 8 | a | 36,0 | a | 313 | a | 575 | a | 6 | a |
| Lata uprawy Years of cultivation | 1996 | 13,9 | a | 13,5 | a | 38,3 | a | 10 | a | 37,0 | b | 283 | b | 565 | b | 5 | b |
| | 1997 | 14,0 | a | 13,5 | a | 36,5 | b | 8 | b | 40,5 | a | 306 | a b | 524 | c | 6 | a |
| | 1998 | 13,5 | a | 11,7 | b | 32,5 | c | 6 | c | 31,0 | c | 327 | a | 610 | a | 6 | a |

Brak jest w literaturze informacji o wpływie środków grzybobójczych stosowanych w uprawie pszenicy na jakość uzyskanego z niej pieczywa. W obecnych badaniach fungicydy wpływały niekorzystnie na cechy jakościowe chleba (tab. 2). Otrzymane z tych prób pieczywo charakteryzowało się mniejszą objętością oraz gorszą porowatością miękiszu w porównaniu z chlebem wypieczonym z mąki odmian nietraktowanych fungicydami. Pieczywo otrzymane z mąki odmian Henika i Banti było najmniejsze, ale odznaczało się lepszą porowatością miękiszu w porównaniu z chlebem wypieczonym z mąki pozostałych odmian i mieszanin. Korzystna, ze względu na objętość chleba, okazała się uprawa mieszaniny Omega+Igna+Banti. Chleby wypieczone z mąki odmian czystych wchodzących w skład tej mieszaniny miały bowiem mniejsze objętości.

Wnioski

1. Cechy genetyczne pszenicy odmiany Banti wpływały na obniżenie szklistości i gęstości ziarna w stanie zsypanym oraz na wzrost celności i wyrównania mieszaniny uprawowej Omega+Igna+Banti w porównaniu z odmianami wrażliwymi na grzyby patogeniczne. Obecność odmiany Henika w mieszaninie Omega+Igna+Henika wpływała niekorzystnie na celność i wyrównanie ziarna.
2. Największą wydajność mąki wymiałowej i ogółem oraz wydajność i wymielność kaszek uzyskano z pszenicy odmian Omega i Igna. Występowanie tych odmian w mieszaninach wpływało korzystnie na wartość wymienionych cech w stosunku do odmian Henika i Banti.
3. Mąka z ziarna pszenicy odmiany Banti charakteryzowała się najwyższym wskaźnikiem sedymentacji i najniższą liczbą opadania. Oddziaływało to na wartość wymienionych cech w mieszaninie z udziałem tej odmiany. Podobna zależność wystąpiła pod względem wydajności i rozplywalności glutenu w przypadku odmiany Henika.
4. Z mąki odmian pszenicy odpornych na choroby powodowane przez grzyby wypieczono chleby o najmniejszej objętości, ale o najlepszej porowatości miękiszu. Największy chleb wypieczono z mąki uzyskanej z mieszaniny ziarna Omega+Igna+Banti.
5. Stosowanie fungicydów wpływało korzystnie na większość cech fizycznych ziarna oraz na wydajność mąki ogółem. Powodowało równocześnie zmniejszenie zawartości białka ogółem w mące oraz pogorszenie objętości i porowatości miękiszu chleba.

Literatura

- [1] Beyer H., Kischowski B.: Prüfung differenzierter Fungizidensätze in verschiedenen Winterweizensorten und Düngungsstufen Nachr. Bl. dt. Pfl.-Schutzdienst. Stuttg., 1983, **35/8**, 113-120.
- [2] Budzyński W.: Produkcja technologicznego ziarna pszenicy. Zeneca Agrochemicals, Warszawa 1997, s. 61-71.

- [3] Budzyński W., Fedejko B., Szempliński W., Majewska K.: Energetyczna, produkcyjna oraz jakościowa ocena różnych technologii uprawy ozimej pszenicy chlebowej. *Fragm. Agronom.*, 1995, **47**, 35-51.
- [4] Cacak-Pietrzak G., Haber T., Łagowska G., Sitkowski T.: Wybrane cechy fizyczne i skład chemiczny ziarna niektórych pszenic krajowych. *Przegl. Zboż. Młyn.*, 1994, **8**, 18-20.
- [5] Chrzanowska-Drożdż B., Jasińska Z., Gil Z.: Cz.II Ocena jakościowa ziarna pszenicy jarej w siewach czystych i mieszaninach odmian. *Pam. Puł.*, 1999, **118**, 67-75.
- [6] Cichy H.: Reakcja pszenżyta jarego i pszenicy na fungicydy i antywylegacz. Cz.II. Wpływ na wybrane cechy rolnicze. *Biul. IHAR*, 1995, **195/196**, 167-172.
- [7] Gąsiorowski H.: Ziarno wadliwe. cz. III. Ziarno wadliwe-uszkodzone przez tzw. choroby polowe. *Przegl. Zboż. Młyn.*, 2000, **10**, 28-29.
- [8] Gil Z.: Wartość technologiczna odmian pszenżyta jarego i ozimego w zależności od warunków środowiska. *Zesz. Nauk. AR Wrocław. Technol. Żywności.*, 1996, **298**. Rozpr. 147, 1-90.
- [9] Goliński P.: Ochratoksyna A i inne mikotoksyny nadal obecne w krajowych zbożach. *Przegl. Zboż. Młyn.*, 2002, **2**, 15-18.
- [10] Jończyk K.: Efektywność chemicznego zwalczania chorób grzybowych w uprawie pszenicy ozimej i żyta. *Pam. Puł.*, 1999, **114**, 151-158.
- [11] Kaniuczak Z.: Noxiousness and control of *Qulema spp.* larvae in the spring wheat. *J. Plant Protection Res.*, 1997, **37(1/2)**, 99-103.
- [12] Karolini-Skaradzińska Z., Subda H., Korczak B., Kowalska M., Żmijewski M., Czubaszek A.: Ocena technologiczna ziarna i mąki wybranych odmian pszenicy ozimej. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2001, **2(27)**, 68-77.
- [13] Klockiewicz-Kamińska E., Brzeziński W.J.: Metody oceny i klasyfikacji jakościowej odmian pszenicy. *Przegl. Zboż. Młyn.*, 1998, **1**, 2-6.
- [14] Kruger I.E., Marchylo B.A.: A comparison of the catalysis of starch components by isoenzymes to two major groups of germinated wheat α -amylase. *Cereal Chem.*, 1985, **62**, 11-18.
- [15] PN-70/R-74008. Ziarno zbóż. Oznaczanie ziaren szklistych.
- [16] PN-73/R-74007. Ziarno zbóż. Oznaczanie gęstości.
- [17] PN-77/A-74041. Ziarno zbóż i przetwory zbożowe. Określenie ilości i jakości glutenu mokrego.
- [18] PN-ISO 3093:1996. Zboża. Oznaczanie liczby opadania.
- [19] PN-ISO 5529:1998. Zboża. Oznaczanie wskaźnika sedymentacyjnego.
- [20] Priestley R.H., Bayls R.A.: Effects of fungicide treatment on yield of winter wheat and spring barley cultivars. *Pl. Path.*, 1982, **31/11**, 31-37.
- [21] Rachoń L.: Plonowanie kilku odmian pszenicy ozimej w warunkach stosowania fungicydu i retardanta. *Fragm. Agric. Systems*, 1991, **32**, 41-53.
- [22] Sadkiewicz J.: Szklistość ziarna – ważny parametr w ocenie jakości pszenicy. *Przegl. Zboż. Młyn.* 1998, **5**, 18-19.
- [23] Tvaruzek L.: Results of testing Caramba fungicide against leaf and spike diseases on wheat. *Proceedings of the International Conference Protection of Cereal Crops against Harmful Organisms*, Kromeriz, Ltd. On 1-4 July, 1997, pp. 202-204.
- [24] Zając T., Borczyk J., Ciepla C., Pryga M.: Wpływ technologii stosowania nawozów azotowych oraz retardanta wzrostu i fungicydu, na wysokość i strukturę plonu pszenicy jarej. *Zesz. Nauk. AR Kraków*, 1993, *Rolnictwo*, **31**, 141-152.

- [25] Zajac T., Borczyk J., Ziólek E., Grzywnowicz-Gazda Z.: Plonowanie wybranych odmian pszenicy ozimej, w zależności od sposobu nawożenia azotem oraz stosowania retardanta i fungicydu. Acta. Agr. Silv. Agr., 1992, **30**, 61-70.

TECHNOLOGICAL QUALITY OF GRAINS OF SPRING WHEAT VARIETIES CULTIVATED IN PURE AND MIXED SOWING AND WITH USE OF FUNGICIDES

Summary

The research material was grain and flour of four spring wheat varieties cultivated in clean and mixed sowing, and harvested during three subsequent years of cultivation. The varieties investigated were: Omega, Igna, Henika, and Banti, as well as their mixes: Omega+Igna+Henika and Omega+Igna+Banti. The mixes in question were made of equal quantities of each variety before the sowing took place. Omega and Igna are sensitive to pathogenic fungi contrary to the Henika and Banti varieties. Two methods of cultivating wheat were applied: with and without the fungicidal protection.

Evidence was provided that genetic features of varieties influenced the technological quality of mixes. The low glassiness of Banti grains and the high sedimentation value of flour produced of these grains (28%, 40,0 cm³) influenced the values of these two parameters in the Omega+Igna+Banti mix (62%, 39,0 cm³). The high productivity and deliquescence of wet gluten contained in a flour from Henika grains (36,4%, 12 mm) contributed to the higher values of parameters of the above mentioned mix of Omega+Igna+Henika (36,2%, 8 mm) if compared with the Omega (35,1%, 7 mm) and Igna varieties (33,8%, 6 mm).

Owing to fungicides added, the majority of grains' physical properties of grain improved, as did the total flour yield. However, at the same time, fungicides caused a decrease in the total protein content in flour and they reduced the volume and porosity quality of bread's crumb.

Key words: wheat, variety mixes, fungicides, grain, quality. ☒

GRAŻYNA KRASNOWSKA

PRÓBA WYKORZYSTANIA ENZYMÓW POCHODZENIA MIKROBIOLOGICZNEGO DO DEGRADACJI SUROWCÓW ZWIERZĘCYCH BOGATYCH W TKANKĘ ŁĄCZNĄ

Streszczenie

Celem pracy było porównanie aktywności proteolitycznej preparatów enzymatycznych uzyskanych z płynów pochodzących z drożdży *Yarrowia lipolytica* szczepu A101 i grzybów *Beauveria bassiana* 278 oraz ocena ich przydatności do degradacji skór wieprzowych. Preparaty enzymatyczne scharakteryzowano pod względem ich aktywności proteolitycznej wobec kazeiny, żelatyny oraz hemoglobiny. Ponadto przeprowadzono ocenę właściwości kolagenolitycznych preparatów w stosunku do kolagenu rozpuszczalnego oraz wołowych ścięgien Achillesa. Aktywność kolagenolityczną oceniono na podstawie dynamiki uwalniania wolnych grup aminowych i hydroksyproliny z substratów.

W drugim etapie badań przeprowadzono hydrolizę skór wieprzowych doświadczalnymi preparatami enzymatycznymi w środowiskach o pH = 3,5 i pH = 6,0 w temp. 20°C. Na podstawie przeprowadzonych badań stwierdzono, że preparat z *Beauveria bassiana* 278 wykazywał najwyższą aktywność proteolityczną w środowisku o pH = 6,0, natomiast preparat z *Yarrowia lipolytica* przy pH = 3,5. W stosunku do kolagenu skór wieprzowych aktywność obu preparatów enzymatycznych była wyższa przy pH = 6,0, jednak z przewagą aktywności kolagenolitycznej preparatu uzyskanego z *Yarrowia lipolytica*. Enzymy z *Yarrowia lipolytica* efektywniej degradowały również białka skór wieprzowych, zwłaszcza w środowisku o optymalnym pH = 3,5.

Słowa kluczowe: enzymy proteolityczne, aktywność kolagenolityczna, hydroliza enzymatyczna, skóry wieprzowe.

Wprowadzenie

Dynamiczny rozwój biotechnologii w znacznym stopniu przyczynia się do postępu technologicznego oraz stwarza możliwości zastąpienia tradycyjnych procesów chemicznych. Ponadto, w przetwórstwie żywności, poprzez m.in. poprawę właściwości funkcjonalnych białek pozwala na poszerzenie oferty asortymentowej kierowanej do

wielu grup konsumentów [5, 7, 17]. Największe znaczenie praktyczne mają technologie, w których zastosowano enzymy. Procesy te mogą być kontrolowane i przerywane na określonym, pożądanym etapie. Zastosowanie preparatów enzymatycznych w technologii żywności umożliwia produkcję nowych i bardziej atrakcyjnych pod względem żywieniowym i sensorycznym produktów, pełniejsze wykorzystanie surowców i produktów ubocznych, a tym samym zmniejszenie kosztów produkcji [7]. Enzymy stosowane w przemyśle spożywczym otrzymywane są z tkanek roślinnych i zwierzęcych, ale obecnie największe znaczenie ma produkcja enzymów przy użyciu wyselekcjonowanych drobnoustrojów [15]. Synteza enzymów z hodowli drobnoustrojów zależy od warunków jej prowadzenia, co z kolei umożliwia ich produkcję o ściśle określonej specyficzności. Wzrastające zapotrzebowanie na standaryzowane preparaty enzymatyczne, których produkcja i zastosowanie będzie ekonomicznie uzasadnione, stwarza konieczność poszukiwania nowych i tanich ich źródeł [4, 17].

Wśród mikroorganizmów zdolnych do biosyntezy znacznych ilości enzymów hydrolitycznych znajdują się grzyby pasożytujące na owadach, określane wspólną nazwą entomopatogenów. Enzymy proteolityczne tych grzybów i ich specyficzność substratowa stanowiły przedmiot zainteresowań badaczy w wielu opracowaniach [2, 4, 13]. Do grzybów tych należą m.in. grzyby *Beauveria bassiana* z klasy *Deuteromyces*. Drugi z analizowanych mikroorganizmów to drożdże z gatunku *Yarrowia lipolytica*, które należą do tzw. drożdży niekonwencjonalnych, występujących w glebie, w naturalnych zasobach wodnych oraz stanowią dominującą florę w produktach spożywczych bogatych w tłuszcz i białka. Charakteryzują się rzadko spotykaną u drożdży zdolnością biosyntezy enzymów pozakomórkowych hydrolizujących białka i tłuszcze. Drożdże te wykorzystują, jako źródło węgla i energii, tylko niektóre cukry, takie jak: glukoza, fruktoza i ryboza. Są jednym z gatunków drożdży wchodzących m.in. w skład dzikiej mikroflory występującej w serach, szczególnie pleśniowych i maziowych [6, 20].

Celem pracy było porównanie aktywności proteolitycznej preparatów enzymatycznych uzyskanych z pływów pochodzących drożdży *Yarrowia lipolytica* i grzybów *Beauveria bassiana* oraz ocena ich przydatności do degradacji skór wieprzowych.

Materiał i metody badań

Do badań użyto dwóch preparatów enzymatycznych uzyskanych z hodowli wgłębnej drożdży *Yarrowia lipolytica* szczepu A 101 oraz grzybów entomopatogenicznych *Beauveria bassiana* 278. Szczep drożdży pochodził z kolekcji Katedry Biotechnologii Akademii Rolniczej we Wrocławiu, natomiast szczep grzybów z Katedry Botaniki i Biologii Akademii Medycznej we Wrocławiu. Hodowle

drobnoustrojów prowadzono w temp. 26–28°C metodą wstrząsową przez 72 h wg Chrzanowskiej i wsp. [3, 6]. W otrzymanych preparatach enzymatycznych określano ich aktywność proteolityczną wobec: 1% kazeiny (Serva), 2% żelatyny (Serva) oraz 2% hemoglobiny preparowanej w warunkach laboratoryjnych z krwi wołowej [12]. Przyrost produktów degradacji substratów oznaczano poprzez pomiar absorbancji przy długości fali 280 nm w próbach inkubowanych w temp. 35°C przez 1 h z dodatkiem ocenianego preparatu enzymatycznego i substratu rozpuszczonego w buforze cytrynianowo-fosforanowym przy pH = 3,5; 6,0 i 8,0 [2, 11, 13]. Za jednostkę aktywności przyjęto taką ilość enzymu, która w warunkach testu powodowała przyrost ekstynkcji $\Delta E = 0,01$. Ponadto przeprowadzono ocenę właściwości kolagenolitycznych preparatów wobec 1% roztworu kolagenu rozpuszczalnego (Serva) oraz wobec natywnych białek wołowych ścięgien Achillesa. Podatność kolagenu rozpuszczalnego (do 20 cm³ roztworu wprowadzono 2 cm³ preparatu enzymatycznego) na degradację oceniano na podstawie dynamiki przyrostu wolnych grup aminowych [10, 19] i hydroksyproliny [1] po 2, 5 i 24 h prowadzenia procesu hydrolizy tego substratu w buforze Brittona Robinsona o pH = 6,0 w temp. 35°C. Natomiast wołowe ścięgna Achillesa (50 mg w 4 cm³ buforu) poddano działaniu 1 cm³ preparatu enzymatycznego w analogicznych warunkach, a intensywność procesu degradacji surowca określano po 24, 48 i 72 h jego trwania.

W drugim etapie badań przeprowadzono hydrolizę skór wieprzowych wyżej wymienionymi preparatami enzymatycznymi, w środowiskach o pH = 3,5 i pH = 6,0 w temp. 20°C. Materiał ten uzyskano z partii bocznych skór świń rasy Pietrain i po oczyszczeniu z tkanki tłuszczowej poddano dwukrotnemu rozdrobnieniu w wilku laboratoryjnym. Hydrolizę prowadzono metodą zalewową przy stosunku surowca do preparatu enzymatycznego jak 1:1 w buforze cytrynianowo-fosforanowym w temp. 20±1°C. Reakcję przerywano po 8, 24 i 48 h prowadzenia procesu wprowadzając 5% roztwór TCA, a następnie próby wirowano przy 7000 obr./min przez 10 min. Stopień hydrolizy białek surowca doświadczalnego określano na podstawie oznaczeń przyrostów zawartości wolnej hydroksyproliny, azotu rozpuszczalnego [11] oraz wolnych grup aminowych w roztworach po określonym czasie trwania degradacji surowca. Doświadczenie przeprowadzono w pięciu seriach.

Analizę statystyczną wyników przeprowadzono używając programu Statgraphics (wersja 5.0).

Wyniki i dyskusja

Wyniki oznaczeń aktywności proteolitycznej preparatu enzymatycznego wobec wybranych substratów przedstawiono w tab. 1. Dowodzą one, że preparat enzymatyczny uzyskany z drożdży *Yarrowia lipolytica* wykazywał najwyższe

zdolności proteolityczne w środowisku o pH = 3,5, natomiast w przypadku preparatu z grzybów *Beauveria bassiana* optymalnym pH działania było 6,0.

Tabela 1

Aktywność preparatów enzymatycznych wobec kazeiny, żelatyny i hemoglobiny.

The activity of enzymatic preparations towards casein, gelatin, and hemoglobin

| pH | Preparat enzymatyczny Enzymatic preparation | Kazeina Casein | | Żelatyna Gelatin | | Hemoglobina Hemoglobin | |
|-----|--|--|------------------------|--|------------------------|--|------------------------|
| | | [j.a./cm ³] [u.a./cm ³] | [j.a./mg] [u.a./mg] | [j.a./cm ³] [u.a./cm ³] | [j.a./mg] [u.a./mg] | [j.a./cm ³] [u.a./cm ³] | [j.a./mg] [u.a./mg] |
| 3,5 | <i>Yarrowia lipolytica</i> | 74,4 | 97,9 | brak no | – | 293,2 | 385,9 |
| | <i>Beauveria bassiana</i> | 25,6 | 168,5 | 2,0 | 13,2 | 52,4 | 344,9 |
| 6,0 | <i>Yarrowia lipolytica</i> | 30,0 | 39,5 | 1,2 | 1,6 | 282,0 | 371,0 |
| | <i>Beauveria bassiana</i> | 160,0 | 1053,3 | brak no | – | 226,4 | 1490,4 |
| 8,0 | <i>Yarrowia lipolytica</i> | 8,0 | 10,67 | 1,0 | 1,3 | 79,0 | 105,3 |
| | <i>Beauveria bassiana</i> | 32,0 | 213,3 | brak no | – | 29,0 | 193,3 |

Kazeina pod wpływem działania obu preparatów ulegała hydrolizie we wszystkich zakresach pH. Preparat z *Yarrowia lipolytica* wykazywał najwyższą zdolność hydrolityczną w stosunku do tego białka przy pH=3,5 (74,4 j.a./cm³ preparatu) i wraz z obniżeniem kwasowości środowiska reakcji jego aktywność malała, osiągając wartość 8,0 j.a./cm³ przy pH = 8,0. Optymalnymi warunkami prowadzenia procesu przy zastosowaniu preparatu enzymatycznego z *Beauveria bassiana* było środowisko buforu o pH = 6,0, w którym aktywność osiągnęła wartość 160 j.a./cm³, natomiast zarówno w kwaśnym (pH = 3,5), jak i zasadowym (pH = 8,0) roztworze aktywność spadała odpowiednio do wartości 25,6 i 32,0 j.a./cm³. Aktywność specyficzna wobec tego substratu wyrażona w aktywności 1 mg białka enzymatycznego jest dużo wyższa w przypadku preparatu pochodzenia grzybowego i w optymalnych warunkach działania osiągnęła wartość powyżej 1050 jednostek. Świadczy to jednak o tym, że uzyskany preparat enzymatyczny charakteryzował się niewielkim stężeniem białka enzymatycznego i należałoby go zatężyć, aby poprawić jego funkcjonalność.

Żelatyna zastosowana w doświadczeniu okazała się substratem bardzo mało dostępnym i tylko nieznaczną aktywność (2 j.a./cm³) wobec niej stwierdzono przy użyciu preparatu z *Beauveria bassiana* w roztworze o pH 3,5 oraz preparatu z *Yarrowia lipolytica* w środowisku o pH 6,0 (1.2 j.a./cm³). Aktywność specyficzną preparatu *Beauveria bassiana* była ponad 8-krotnie wyższa (13,2 j.a./mg białka) niż z *Yarrowia lipolytica* (1,6 j.a./mg białka).

Spośród analizowanych substratów najbardziej podatna na działanie ocenianych preparatów była hemoglobina. Wobec hemoglobiny preparat z *Beauveria bassiana* wykazywał aktywność na poziomie 52,4 j.a./cm³ przy pH = 3,5, około 4,5-krotnie wyższą (226,4 j.a./cm³) przy pH = 6,0, a przy pH = 8,0 najniższą, rzędu 29,0 j.a./cm³. Preparat z *Yarrowia lipolytica* charakteryzował się wobec tego substratu najwyższą aktywnością i była ona zbliżona w roztworach o wartościach pH = 3,5 i 6,0, a wynosiła odpowiednio: 293,2 i 282,0 j.a./cm³, ale znacznie spadła w teście przeprowadzonym w środowisku alkalicznym (przy pH = 8,0 oznaczono 79 j.a./cm³ preparatu). Uwzględniając zawartość białka w preparatach (0,15 mg białka w 1 cm³ preparatu z *Beauveria bassiana* i 0,76 mg białka w 1 cm³ preparatu z *Yarrowia lipolytica*) obliczono ich aktywność specyficzną. Najwyższe wartości odnotowano w przypadku proteaz z *Beauveria bassiana* – 344,9 j.a./mg białka (pH = 3,5) i 1490,4 j.a./mg białka (pH=6,0), natomiast enzymy z *Yarrowia lipolytica* cechowały się aktywnością rzędu 371 j.a./mg białka (pH = 6,0) i 386 j.a./mg białka (pH = 3,5). Wartości te wskazują również, że preparat enzymatyczny z *Yarrowia lipolytica* był bardziej stabilny w różnych zakresach pH, gdyż nie zmieniał istotnie swej aktywności wobec tego substratu.

W dalszej części badań przeprowadzono ocenę aktywności kolagenolitycznej analizowanych preparatów enzymatycznych. Zastosowanymi substratami były: kolagen rozpuszczalny oraz wołowe ścięgna Achillesa. Podatność tych substratów oceniono na podstawie dynamiki zmian zawartości wolnych grup aminowych i hydroksyproliny w roztworach po przeprowadzonej degradacji surowców. Wiadomo, że niespecyficzne dla białek kolagenowych enzymy oddziałują tylko na niehelikalne końce cząsteczek kolagenu oraz na białka towarzyszące, niemniej są one stosowane do izolacji kolagenu z różnych źródeł [14, 18]. Analizując uzyskane dane (tab. 2) należy stwierdzić, że będące przedmiotem badań preparaty enzymatyczne wykazały odmienne właściwości hydrolityczne w stosunku do tych surowców. Białka natywnych ścięgien Achillesa okazały się bardziej opornym substratem na działanie preparatu z grzybów *Beauveria bassiana* niż zastosowany roztwór kolagenu rozpuszczalnego. Poziom hydrolizy białek ze ścięgien Achillesa, wyrażony przyrostem wolnych grup aminowych po 3 dobach prowadzenia procesu, był na niewiele wyższym poziomie niż hydroliza kolagenu rozpuszczalnego prowadzona przez 2 h (85,3 µg Gly z wołowych ścięgien Achillesa i 62,1 µg Gly z kolagenu rozpuszczalnego). Wyraźniejsze efekty obserwowano w degradacji białek kolagenowych ścięgien, gdzie po 48 h hydrolizy poziom oznaczanej

hydroksyproliny (18,2 µg) przewyższał jej ilość mierzoną po 24 h hydrolizy kolagenu rozpuszczalnego (17,8 µg). W przypadku prowadzenia hydrolizy z zastosowaniem preparatu drożdżowego przyrosty wolnych grup aminowych i hydroksyproliny kształtowały się na znacznie wyższym poziomie. Proteoliza obu substratów po 24 h osiągnęła zbliżony poziom degradacji tych białek. W przypadku kolagenu rozpuszczalnego oznaczono bowiem 72,6 µg hydroksyproliny i 316,2 µg glicyny, natomiast w drugim porównywanym surowcu wartości te kształtowały się odpowiednio na poziomie 87,7 µg hydroksyproliny i 303,8 µg glicyny. Wyniki tych oznaczeń potwierdziły poprzednio zaobserwowane spostrzeżenia, że aktywność kolagenolityczna preparatu drożdżowego jest wyższa niż preparatu uzyskanego po hodowli grzybów *Beauveria bassiana*.

Tabela 2

Aktywność kolagenolityczna preparatów enzymatycznych.

The collagenolytic activity of enzymatic preparations.

| Substrat Substrate | Czas degradacji Duration of degradation [h] | Przyrosty wolnej hydroksyproliny Increase of free hydroxyprolin [µg Hyp/g substrate] | | Przyrosty wolnych grup aminowych Increases in free amine groups [µg Gly/g substrate] | |
|---|---|--|---------------------------|--|---------------------------|
| | | <i>Yarrowia lipolytica</i> | <i>Beauveria bassiana</i> | <i>Yarrowia lipolytica</i> | <i>Beauveria bassiana</i> |
| Kolagen rozpuszczalny Soluble collagen | 2 | 26,8 | 11,2 | 75,1 | 62,1 |
| | 5 | 52,5 | 13,4 | 133,2 | 183,3 |
| | 24 | 72,6 | 17,8 | 316,2 | 280,4 |
| Wołowe ścięgna Achillesa Achilles tendons of beef cattle | 24 | 87,7 | 6,0 | 303,8 | 16,7 |
| | 48 | 137,7 | 18,2 | 510,0 | 50,2 |
| | 72 | 254,7 | 27,6 | 602,5 | 85,3 |

W drugim etapie badań przeprowadzono hydrolizę enzymatyczną skór wieprzowych w temp. 20°C, w środowisku o pH = 3,5 i pH = 6,0. Po upływie 8, 24 i 48 h prowadzenia procesu określono stopień degradacji enzymatycznej surowca, oznaczając zawartość wolnej hydroksyproliny, azotu rozpuszczalnego i wolnych grup aminowych. Wyniki tych oznaczeń przedstawiono w tab. 3. i 4.

W wyniku degradacji skór wieprzowych, prowadzonej przy pH = 3,5 z wykorzystaniem enzymów z *Yarrowia lipolytica*, po 8 h trwania procesu hydroksyprolina była uwalniana na poziomie 27,5 µg Hyp/g substratu. Przedłużanie hydrolizy do 24 i 48 h powodowało znacznie mniejsze przyrosty oznaczanej Hyp w roztworze do wartości 30,1 i 32,8 µg Hyp/g substratu. Analiza statystyczna wyników dowiodła istotności różnic pomiędzy porównywanymi okresami badawczymi. Niższe

przyrosty wolnej hydroksyproliny odnotowano podczas hydrolizy prowadzonej w obecności preparatu enzymatycznego z grzybów *Beauveria bassiana*. Wielkości te zawierały się w granicach od 0,4 do 8,9 μg Hyp z 1g substratu (tab. 4), niemniej wydłużanie czasu prowadzenia procesu powodowało istotny statystycznie przyrost ilości tego aminokwasu.

Tabela 3

Produkty degradacji enzymatycznej skór wieprzowych.
Products of enzymatic degradation of pigskins.

| Parametr Parameter | Czas Duration [h] | Preparat enzymatyczny Enzymatic preparation | | | |
|---|-------------------------|--|----------|---------------------------|----------|
| | | <i>Yarrowia lipolytica</i> | | <i>Beauveria bassiana</i> | |
| | | pH = 3,5 | pH = 6,0 | pH = 3,5 | pH = 6,0 |
| Wolna hydroksyprolina [μg Hyp/g substratu] | 0 | 19,7 | 22,3 | 2,8 | 5,5 |
| Free hydroxyprolin [μg Hyp/g substrate] | 8 | 27,5 | 26,2 | 3,2 | 7,9 |
| | 24 | 30,1 | 40,6 | 4,2 | 9,6 |
| | 48 | 32,8 | 47,2 | 11,7 | 23,2 |
| Wolne grupy aminowe [μg Gly/g substratu] | 0 | 657,8 | 603,8 | 386,3 | 303,8 |
| Free amine groups [μg Gly/g substrate] | 8 | 1127,3 | 1402,5 | 441,8 | 334,5 |
| | 24 | 2488,5 | 2104,5 | 538,5 | 621,8 |
| | 48 | 2847,8 | 2300,3 | 590,3 | 705,0 |
| Azot rozpuszczalny [mg N/g substratu] | 0 | 0,1 | 0,1 | 0,7 | 2,2 |
| Soluble nitrogen [mg N/g substrate] | 8 | 2,3 | 0,2 | 3,9 | 4,5 |
| | 24 | 3,9 | 2,7 | 4,5 | 6,2 |
| | 48 | 5,4 | 3,1 | 4,7 | 7,0 |

Podczas prowadzenia hydrolizy enzymatycznej doświadczalnego surowca przy pH = 6,0 preparatem z *Yarrowia lipolytica*, przyrost wolnej hydroksyproliny po 8 h był nieznaczny i wynosił tylko około 4 μg Hyp z 1g substratu, natomiast dłuższy okres prowadzenia hydrolizy (48 h) przyczynił się do blisko dwukrotnego przyrostu uwalnianej hydroksyproliny w porównaniu ze środowiskiem o niższej kwasowości. W przypadku prowadzenia degradacji z wykorzystaniem preparatu z *Beauveria bassiana* ilość oznaczonej hydroksyproliny była niższa, a wartości przyrostu tego aminokwasu w środowisku o wyższym pH wskazują, że są to warunki efektywniejszej hydrolizy skór przez te enzymy. Tak więc aktywność kolagenolityczna obu preparatów enzymatycznych była wyższa w stosunku do kolagenu skór wieprzowych przy pH = 6,0, mimo że przy proponowanym niższym pH wydajność hydrolizy tego białka jest dodatkowo wspomagana przez środowisko prowadzenia procesu. Z literatury przedmiotu wiadomo, że stosowanie kwasów i buforów w zakresach pH od 3 do 3,5 pozwala na uzyskanie kolagenu rozpuszczalnego, gdyż następuje rozpuszczenie

młodego tropokolagenu oraz ulegają degradacji niektóre kowalencyjne wiązania sieciujące [8, 9, 16].

Analizując wyniki oznaczeń wolnych grup aminowych po procesie hydrolizy skór stwierdzono, że wydłużenie czasu trwania procesu istotnie wpłynęło na zwiększenie poziomu degradacji białek tego surowca. W przypadku zastosowania preparatu drożdżowego oznaczone ilości glicyny były ponad 10-krotnie wyższe przy pH = 3,5 niż przy degradacji skór preparatem grzybowym. Różnice te były mniej drastyczne (4-5-krotny wzrost zawartości oznaczanej glicyny) po hydrolizie skór w czasie 48 i 72 h, przy pH = 6,0. Porównując ilości oznaczanej glicyny w różnych okresach badawczych należy podkreślić, że najintensywniejsza degradacja białek następowała w pierwszych 24 h prowadzenia procesu w obu zakresach pH. Wydłużanie czasu trwania hydrolizy o następne 24 h przyniosło również istotną zmianę w wartościach oznaczanego parametru, ale charakteryzowała się ona mniejszą intensywnością.

Tabela 4

Przyrosty produktów degradacji enzymatycznej skór wieprzowych.
Increases in products of enzymatic degradation of pigskins.

| pH | Czas Duration [h] | Wolna hydroksyprolina [µg Hyp/g substratu] Free hydroxyprolin [µg Hyp/g substrate] | | Wolne grupy aminowe [µg Gly/g substratu] Free amine groups [µg Gly/g substrate] | | Azot rozpuszczalny [mg N/g substratu] Soluble nitrogen [mg N/g substrate] | |
|-----|-------------------------|---|-------------------------------|--|-------------------------------|--|-------------------------------|
| | | <i>Yarrowia lipolytica</i> | <i>Beauveria bassiana</i> | <i>Yarrowia lipolytica</i> | <i>Beauveria bassiana</i> | <i>Yarrowia lipolytica</i> | <i>Beauveria bassiana</i> |
| 3,5 | 0 | 0,0 ^{a*)} | 0,0 ^a | 0,0 ^a | 0,0 ^a | 0,0 ^a | 0,0 ^a |
| | 8 | 7,8 ^{bc} | 0,4 ^a | 469,5 ^b | 55,5 ^c | 2,2 ^c | 3,2 ^c |
| | 24 | 10,4 ^c | 1,4 ^b | 1830,8 ^{de} | 152,2 ^d | 3,8 ^e | 3,8 ^d |
| | 48 | 13,1 ^{cd} | 8,9 ^e | 2190,0 ^e | 204,0 ^e | 5,3 ^e | 4,0 ^{de} |
| 6,0 | 0 | 0,0 ^a | 0,0 ^a | 0,0 ^a | 0,0 ^a | 0,0 ^a | 0,0 ^a |
| | 8 | 3,9 ^b | 2,4 ^c | 798,7 ^c | 30,7 ^b | 0,1 ^b | 2,3 ^b |
| | 24 | 18,3 ^e | 4,1 ^d | 1500,8 ^d | 318,0 ^f | 2,6 ^d | 4,0 ^{de} |
| | 48 | 24,9 ^e | 17,7 ^f | 1696,5 ^d | 401,2 ^e | 3,0 ^f | 4,8 ^f |

Wartości średnie w tej samej kolumnie oznaczone jednakowymi literami oznaczają brak różnic statystycznych przy poziomie ufności $\alpha \leq 0,05$.

The mean values in the same and designated by the same letters indicate no statistically significant differences at a trust level of $\alpha \leq 0,05$

Oceniając stopień hydrolizy białek surowca na podstawie przyrostów azotu rozpuszczalnego w roztworach należy podkreślić znacznie wyższą efektywność hydrolityczną preparatu enzymów pochodzenia grzybowego w stosunku do preparatu drożdżowego. Przy zastosowaniu pierwszego z omawianych preparatów przyrosty azotu rozpuszczalnego zawierały się w granicach od 3,37 mg N do 4,04 mg N z 1 g

substratu przy pH = 3,5 i nieznacznie więcej (do 4,8 mg N/g substratu) przy pH = 6,0. W przypadku tego parametru różnice w efektywności preparatu z grzybów *Beauveria bassiana* były mniej istotne przy zróżnicowaniu warunków środowiskowych. Preparat pochodzenia drożdżowego wykazywał natomiast większą zdolność hydrolityczną białek skór przy pH = 3,5, szczególnie przy wydłużeniu czasu działania do co najmniej 24 h, jakkolwiek na efektywność degradacji białek doświadczalnego surowca może również wpływać zastosowany w doświadczeniu bufor [18]. Mniejsza kwasowość środowiska istotnie obniżyła aktywność tych enzymów. Analiza statystyczna wyników wskazuje na istotność różnic w wartościach tego wyróżnika we wszystkich okresach badawczych przy obu testowanych preparatach w każdym zakresie pH ich działania.

Wnioski

1. Preparaty enzymatyczne z drożdży *Yarrowia lipolytica* oraz z grzybów *Beauveria bassiana* charakteryzowały się odmiennymi właściwościami hydrolitycznymi. Optymalną kwasowością środowiska działania preparatu enzymatycznego z *Beauveria bassiana* jest wartość pH = 6,0, a w przypadku preparatu z *Yarrowia lipolytica* pH = 3,5.
2. Spośród testowanych substratów, w przypadku obu ocenianych preparatów enzymatycznych, hemoglobina była najbardziej dostępnym białkiem, a żelatyna najbardziej opornym.
3. Aktywność kolagenolityczna preparatu drożdżowego jest wyższa niż preparatu pochodzenia grzybowego.
4. W stosunku do kolagenu skór wieprzowych aktywność obu preparatów enzymatycznych jest wyższa przy pH = 6,0.
5. Enzymy z *Yarrowia lipolytica* efektywniej degradowały białka skór wieprzowych, przy czym optymalnym pH ich działania było pH = 3,5.
6. Preparat enzymatyczny z *Beauveria bassiana* wykazuje wyższe zdolności proteolityczne w stosunku do białek skór w środowisku o pH = 6,0.

Praca wykonana w ramach grantu KBN 5 P06G 028 19

Literatura

- [1] A.O.A.C.: Official Methods of Analysis, 15th Edition: 1st Supplement, Hydroxyproline in Meat and Meat Products, 1990, 36-37.
- [2] Bichodka M.J., Khachatourians G.G.: Purification and properties of an extracellular proteinase produced by entomopathogenic fungi. Appl. Environ. Microbiol., 1987, 7, 1679-1684.
- [3] Chrzanowska J., Kołaczowska M.: Production of extracellular proteolytic enzymes by *Beauveria bassiana*. Acta Mycol., 1998, 33 (2), 277-285.

- [4] Chrzanowska J., Polanowski A.: Enzymy proteolityczne grzybów rodzaju *Penicillium*. Postępy Mikrobiologii, 1990, **1/2**, 3-15.
- [5] Frokjaer S.: Use of hydrolysates for protein supplementation. Food Technol., 1994, **10**, 86-88.
- [6] Gdula A., Skiba A., Chrzanowska J., Wojtatowicz M.: *Yarrowia lipolytica* – jej aktywność hydrolityczna i potencjalny udział w procesie dojrzewania serów. Mat. XXIX Sesji Nauk. KTiChŻ PAN, Olsztyn 1998, s. 207.
- [7] Kalinowska H., Bielecki S., Turkiewicz M.: Enzymy nowej generacji w produkcji żywności . Cz. I. Przem Spoż. 2000, **10**, 3-5.
- [8] Kijowski J.: Muscle proteins. In: Chemical and functional properties of food proteins. Ed. Z.E. Sikorski, Technomic Publishing Co. Inc. Lancaster, 2001, pp. 233-269.
- [9] Krasnowska G.: Kolagen – właściwości i znaczenie technologiczne. Zesz. Nauk. AR we Wrocławiu, 1998, **328**, 137-147.
- [10] Kuchroo C.V., Ramilly I.P., Fox P.F.: Assessment of proteolysis in cheese by reaction with trinitrobenzoesulphonic acid. J. Food Technol., 1983, **7**, 129-133.
- [11] Leger R.J., Cooper R.M., Charnley A.K.: Cuticle-degradation enzymes of entomo-pathogenic fungi. Cuticle degradation in vitro by enzymes from enthomopathogen. J. Invertebr. Pathol., 1986, **47**, 167-177.
- [12] Mejbaum-Katzenellenbogen W., Mochnacka I.: Kurs praktyczny biochemii. PWN, Warszawa 1968.
- [13] Morihara K., Tsuzuki H.: Elastolytic properties of various proteinases of microbial origin. Arch. Biochem. Biophys., 1967, **120**, 68-78.
- [14] Powell T.H., Hunt M.C., Dickeman M.E.: Enzymatic assay to determine collagen thermal denaturation and solubilization. Meat Sci., 2000, **54**, 307-311.
- [15] Rodziewicz A., Sobieszcański J.: Pozakomórkowe proteiny drobnoustrojów. Postępy Mikrobiologii, 1998, **1/2**, 55-73.
- [16] Sadowska M., Kotłowski R.: Fizykochemiczne właściwości kolagenu ryb, świń i bydła. W: Żelatyna. Właściwości, technologia, użytkowanie. Polska Izba Dodatków do Żywności, Konin 1999, 13-25.
- [17] Sawicka – Żukowska R.: Zastosowanie preparatów enzymatycznych w przemyśle rolnospożywczym. Przem. Spoż., 1998, **3**, 19-22.
- [18] Sikorski Z.E.: Charakterystyka białek głównych surowców żywnościowych. W: Chemia żywności, pod red. Z.E. Sikorskiego. WNT, Warszawa 2002, s. 304-333.
- [19] Snyder S. L., Sobociński P.Z.: An improved 2,4,6-trinitrobenzoesulphonic acid method for determination of amines. Analys. Bioch., 1975, **64**, 285-288.
- [20] Wojtatowicz M., Chrzanowska J., Juszczak P., Skiba A., Gdula A.: Identification and biochemical characteristic of yeast microflora of Rocpol cheese, J. Food Microbiol., 2001, **69**, 135-140.

AN ATTEMPT TO USE ENZYMES OF MICROBIOLOGICAL ORIGIN FOR THE DEGRADATION OF ANIMAL PRODUCTS RICH IN CONNECTIVE TISSUE

S u m m a r y

The objective of the investigation was to compare the proteolytic activity of enzymatic preparations obtained from the post-culture fluids of yeast *Yarrowia lipolytica* strain A101, fungi *Beauveria bassiana* 278, and to assess their usefulness for the degradation of pigskins. The proteolytic activity of some enzymatic preparations towards casein, gelatin, and hemoglobin was investigated. Moreover, the assessment of collagenolytic features of the preparations towards soluble collagen and Achilles tendons of

beef cattle was performed. The collagenolytic activity was assessed on the basis of the dynamics of realizing free amine groups and hydroxyproline from the substrates. Next, the hydrolysis of pigskins using experimental enzymatic preparations was conducted in the media of pH = 3.5 and pH = 6.0, at 20°C. Basing on the investigation results, it was stated that the preparation obtained from *Beauveria bassiana* 278 was characterized by the highest proteolytic activity at pH=6.0, whereas the activity of the preparation obtained from *Yarrowia lipolytica* was the highest at pH=3.5. The activity of both enzymatic preparations towards collagen from beef cattle skins was higher at pH=6.0. However, the collagenolytic activity of the preparation obtained from *Yarrowia lipolytica* was higher than the latter one. The proteins from pigskins degraded the enzymes of *Yarrowia lipolytica* more efficiently and the optimum pH was 3.5.

Key words: proteolytic enzymes, collagenolytic activity, enzymatic hydrolysis, pigskins. ☒

GRAŻYNA KRASNOWSKA

OCENA WŁAŚCIWOŚCI PROTEOLITYCZNYCH PREPARATÓW ENZYMATYCZNYCH UZYSKANYCH Z RÓŻNYCH SZCZEPÓW DROŻDŻY *YARROWIA LIPOLYTICA*

Streszczenie

Przeprowadzone badania miały na celu porównanie aktywności hydrolitycznej preparatów enzymatycznych, otrzymanych z płynów pochodzących z dwóch szczepów drożdży *Yarrowia lipolytica* PII6a i A-101, oraz sprawdzenie możliwości ich zastosowania do prowadzenia hydrolizy skór wieprzowych. Preparaty enzymatyczne uzyskano z hodowli drożdży prowadzonych na dwóch podłożach, w których zastosowano różne źródła węgla (olej słonecznikowy lub glukozę). Stwierdzono niewielką aktywność kolagenolityczną wszystkich ocenianych preparatów enzymatycznych. Na podstawie oznaczeń ich aktywności proteolitycznej i lipolitycznej do prowadzenia hydrolizy skór wieprzowych wybrano preparaty otrzymane ze szczepu PII6a.

Efektywność hydrolizy enzymatycznej skór, wyrażona ilością uwalnianej hydroksyproliny, wolnych grup aminowych oraz białka, była największa przy zastosowaniu mieszaniny preparatów enzymów pochodzących z hodowli na obu podłożach. Ponadto poprzez odpowiedni dobór warunków prowadzenia procesu (temperatura, pH oraz rozdrobnienie surowca) można istotnie wpływać na jego wydajność. Przedstawione wyniki badań wskazują na celowość stosowania tego taniego źródła enzymów do degradacji białek skór wieprzowych.

Słowa kluczowe: enzymy proteolityczne, aktywność kolagenolityczna, hydroliza enzymatyczna, skóry wieprzowe

Wprowadzenie

Wśród preparatów enzymatycznych stosowanych w technologii żywności największą grupę stanowią proteiny (ponad 60% wszystkich stosowanych preparatów), następnie amylazy (30%) i lipazy (3%). Wraz z rozwojem biotechnologii i upowszechnieniem się produkcji preparatów enzymatycznych pochodzenia mikrobiologicznego, koszty ich produkcji są coraz mniejsze, co stwarza sprzyjające

warunki do powszechnego ich stosowania w praktyce produkcyjnej [3, 6, 20].

Zastosowanie wyizolowanych enzymów w przetwórstwie mięsa ogranicza się obecnie do preparatów działających hydrolitycznie oraz transglutaminazy sieciującej białka. Preparaty enzymów proteolitycznych wykorzystuje się przede wszystkim do skruszania mięsa. Najpowszechniej do tego celu są stosowane preparaty pochodzenia roślinnego, takie jak: papaina, bromelaina i ficyna, preparaty pochodzenia mikrobiologicznego oraz preparaty enzymów proteolitycznych pochodzenia zwierzęcego. Enzymy roślinne degradują przede wszystkim białka tkanki łącznej – kolagen i elastynę, a tylko w nieznacznym stopniu działają na włókna mięśniowe, podczas gdy proteazy pochodzenia mikrobiologicznego oddziałują zwłaszcza na włókna mięśniowe, a tkankę łączną degradują tylko w pewnych warunkach [5, 8, 10, 19, 23].

Celem badań było porównanie aktywności hydrolitycznej preparatów enzymatycznych, otrzymanych z płynów pochodzących dwóch szczepów drożdży *Yarrowia lipolytica* PII6a i A-101 oraz sprawdzenie możliwości ich wykorzystania do prowadzenia hydrolizy skór wieprzowych.

Materiał i metody badań

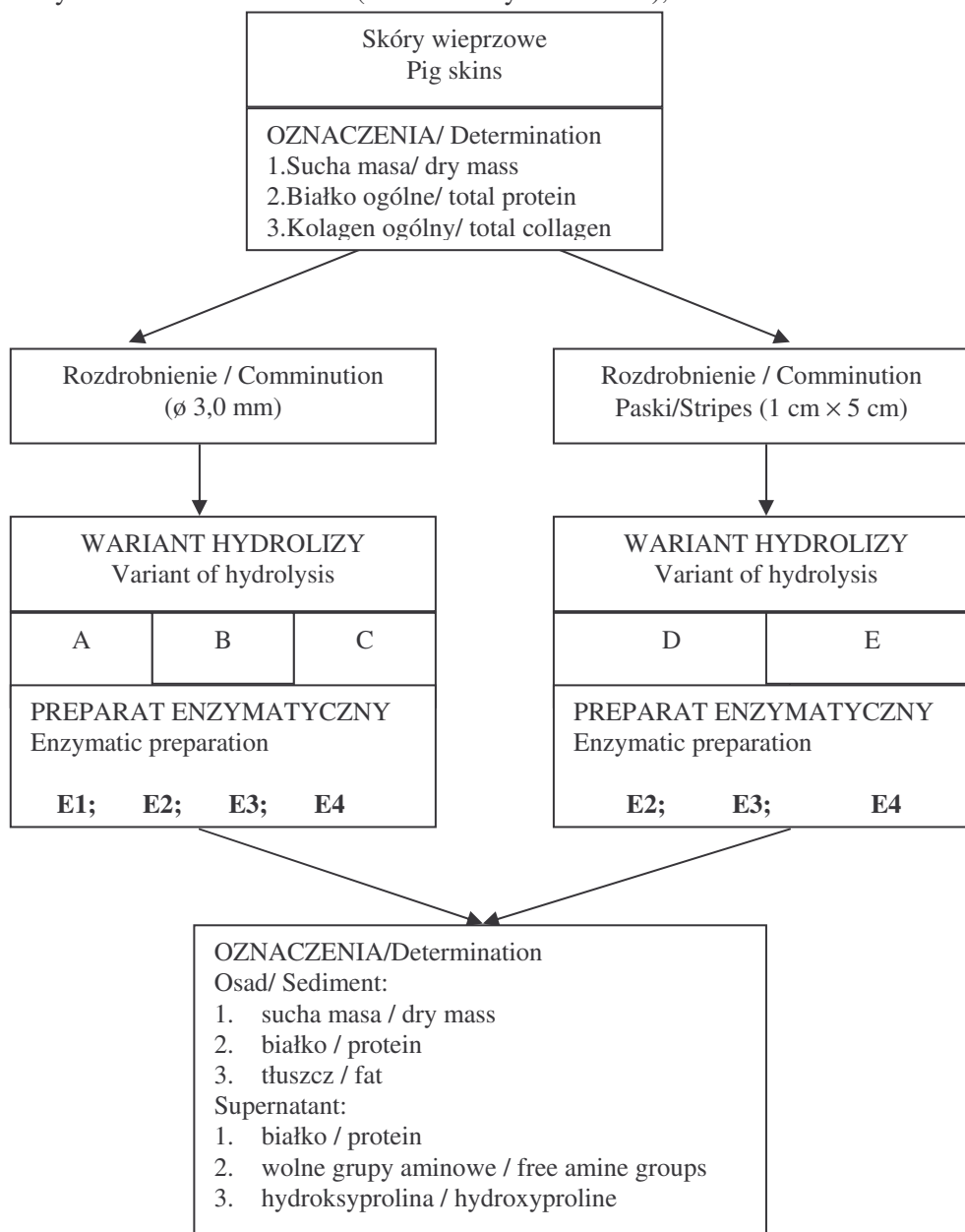
Szczepy drożdży pochodziły z kolekcji Katedry Biotechnologii Akademii Rolniczej we Wrocławiu. Zastosowane preparaty enzymatyczne uzyskano z hodowli wgłębnej drożdży *Yarrowia lipolytica* szczepów A-101 i PII6a. Gatunek ten jest jednym z gatunków drożdży wchodzących między innymi w skład dzikiej mikroflory występującej w serach, szczególnie pleśniowych i maziowych [7, 18, 24].

Hodowle ww. szczepów prowadzono wg metodyki podanej przez Gdulę i wsp. [7], a w podłożach jako źródło węgla zastosowano glukozę (PG) lub olej słonecznikowy (PO). W otrzymanych preparatach enzymatycznych, po ich odwirowaniu lub dodatkowym podczyszczeniu, zbadano aktywność proteolityczną wobec takich substratów białkowych, jak: kazeina (Serva), żelatyna (Serva) i hemoglobina (preparat przygotowany laboratoryjnie z krwi wołowej). Aktywność oznaczano spektrofotometrycznie po inkubacji, w temp. 35°C przez 1 h, substratu z preparatem enzymatycznym w buforze fosforanowo-cytrynianowym [4, 12, 14]. W przypadku obu szczepów przeprowadzono również ocenę aktywności lipolitycznej w teście płytkowym wobec 1% trójbutyryny, w którym określano średnicę stref przejaśnienia [7].

W drugim etapie badań, do doświadczeń wybrano preparat enzymatyczny otrzymany ze szczepu PII6a (uzasadnienie zawarto w rozdz. *Wyniki i dyskusja*).

Zastosowano 4 modelowe preparaty uzyskane w różnych warunkach hodowli drożdży i o różnym stopniu oczyszczenia, wprowadzając następujące ich oznaczenia:

- **E1** – preparat enzymatyczny otrzymany z płynów pochodzących szczepu PII6a drożdży *Yarrowia lipolytica*, hodowanego na podłożu z dodatkiem oleju, poddany oczyszczaniu w AMICONIE (rozcieńczony 30–krotnie),



Rys. 1. Schemat doświadczenia.

Fig. 1. Flowchart of experiment's conduct.

- **E2** – preparat enzymatyczny otrzymany z płynów pochodzących z szczepu PII6a drożdży *Yarrowia lipolytica*, hodowanego na podłożu z dodatkiem oleju, poddany wirowaniu przy 10000 obr./min (rozcieńczony 20-krotnie),
- **E3** – preparat enzymatyczny otrzymany z płynów pochodzących z szczepu PII6a drożdży *Yarrowia lipolytica*, hodowanego na podłożu z dodatkiem glukozy, poddany wirowaniu przy 10000 obr./min (rozcieńczony 20-krotnie),
- **E4** – mieszanina preparatów enzymatycznych E2 i E3 (1:1).

Tak przygotowane preparaty poddano oznaczeniom aktywności w zakresie pH 3 - 8, w celu określenia optymalnych warunków działania oraz porównania aktywności preparatów różniących się metodą podczyszczania.

Drugą część doświadczenia dotyczyła oceny procesu hydrolizy enzymatyczno-kwasowej skór wieprzowych o różnym stopniu rozdrobnienia. Materiał ten uzyskano z partii bocznych skór świń rasy Pietrain i po oczyszczeniu z przylegającej tkanki tłuszczowej rozdrabniano w wilku laboratoryjnym lub krojono w paski o wymiarach 1 x 5 cm. W próbach skór oznaczano zawartość: suchej masy [16], białka ogółem [17] i kolagenu [1]. Hydrolizę prowadzono z zastosowaniem ww. preparatów enzymatycznych w buforze fosforanowo-cytrynianowym o pH = 3,0 metodą zalewową, zachowując proporcje preparatu enzymatycznego do skór jak 1:1. W tym etapie badań przeprowadzono 5 wariantów hydrolizy skór w 5 seriach, które oznaczono w następujący sposób:

- **A** – hydroliza skór rozdrobnionych w wilku laboratoryjnym (Ø 3 mm) – 8 h w temp. 20°C,
- **B** – hydroliza skór rozdrobnionych w wilku laboratoryjnym (Ø 3 mm) – 8 h w temp. 20°C, a następnie przez 16 h w temp. 4°C,
- **C** – hydroliza skór rozdrobnionych w wilku laboratoryjnym (Ø 3 mm) – 24 h w temp. 4°C,
- **D** – hydroliza skór ciętych w paski o wymiarach ok. 1x5 cm – 8 h w temp. 20°C,
- **E** – hydroliza skór ciętych w paski o wymiarach ok. 1x5 cm – 24 h w temp. 20°C.

Ocenę efektywności degradacji enzymatyczno-kwasowej prowadzono w oparciu o analizę przyrostu zawartości wolnej hydroksyproliny [1], wolnych grup aminowych [11, 22] i zmian zawartości białka [13] w roztworach po hydrolizie oraz zmian zawartości suchej masy, białka ogółem w skórkach po degradacji.

Wyniki badań poddano analizie statystycznej stosując dwuczynnikową analizę wariancji. Obliczeń dokonano za pomocą programu STATISTICA 5.1.

Schemat układu doświadczenia przedstawiono na rys. 1.

Wyniki i dyskusja

*Ocena aktywności preparatów enzymatycznych otrzymanych z hodowli drożdży *Yarrowia lipolytica* szczepów PII6a i A-101*

Aktywność proteolityczną preparatów przedstawiono w tab. 1

W przypadku szczepu A-101, wyższą aktywność wobec hemoglobiny wykazał preparat uzyskany z płynu pohodowlanego, w którym źródłem węgla dla drobnoustrojów był olej słonecznikowy. Osiągnęła ona wartość 54 j.a./cm³ preparatu. Natomiast preparat enzymatyczny pochodzący z hodowli szczepu PII6a charakteryzował się dużo wyższą aktywnością hydrolityczną wobec tego substratu. Przy czym należy zaznaczyć, że zmiana źródła węgla w podłożu hodowlanym miała bardzo istotny wpływ na tę aktywność, która kształtowała się na poziomie 72,0 j.a./cm³ w przypadku podłoża PO i 194,0 j.a./cm³ przy zastosowaniu podłoża PG. Kazeina natomiast okazała się substratem, wobec którego wyższą aktywnością cechowały się preparaty enzymatyczne z hodowli na podłożu z dodatkiem oleju jako źródła węgla. W przypadku tego substratu również aktywność preparatu ze szczepu PII6a była wyższa (26 i 114 j.a./cm³ odpowiednio z hodowli na podłożu PG i PO) w stosunku do aktywności preparatu pochodzącego z hodowli szczepu A-101, gdzie analogiczne wartości oznaczono na poziomie 6,65 i 42,0 j.a./cm³. W płynach pohodowlanych obu szczepów nie stwierdzono aktywności proteolitycznej wobec żelatyny w środowisku o pH=3,0, natomiast przy pH=6,0 preparaty wykazywały niską aktywność wobec tego białka. Wiadomo, że wszystkie enzymy nieswoiste działają wyłącznie na niehelikalne końce łańcuchów cząsteczek kolagenu, a działanie tych enzymów dotyczy głównie innych białek towarzyszących kolagenowi [2, 9, 15].

Tabela 1

Aktywność preparatów enzymatycznych.
Activity of enzymatic preparations.

| Substrat Substrate | pH | Rodzaj preparatu enzymatycznego Type of enzymatic preparation | | | | | | | |
|---------------------------|-----|--|---|--|---|--|---|--|---|
| | | A - 101 | | | | PII6a | | | |
| | | PG | | PO | | PG | | PO | |
| | | [j.a./cm ³] [u.a./cm ³] | [j.a./mg białka] [u.a./mg protein] | [j.a./cm ³] [u.a./cm ³] | [j.a./mg białka] [u.a./mg protein] | [j.a./cm ³] [u.a./cm ³] | [j.a./mg białka] [u.a./mg protein] | [j.a./cm ³] [u.a./cm ³] | [j.a./mg białka] [u.a./mg protein] |
| Hemoglobina Hemoglobin | 3,0 | 16,80 | 22,40 | 54,00 | 40,06 | 194,00 | 90,36 | 72,00 | 71,50 |
| Kazeina | 6,0 | 6,65 | 8,87 | 42,00 | 31,16 | 26,00 | 12,11 | 114,00 | 113,21 |

| | | | | | | | | | |
|----------|-----|------|------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| Casein | | | | | | | | | |
| Żelatyna | 3,0 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 4,00 | 1,86 | 0,00 | 0,00 |
| Gelatin | 6,0 | 1,20 | 1,60 | 18,00 | 13,35 | 44,00 | 20,49 | 16,00 | 15,89 |

PG – podłoże hodowlane z glukozą / culture medium with glucose;

PO – podłoże hodowlane z olejem słonecznikowym / culture medium with oil.

W teście, w którym oceniano aktywność lipolityczną preparatów enzymatycznych, wykazano wyższą efektywność preparatów ze szczepu PII6a, gdyż obszary przejaśnienia osiągnęły średnicę w przedziałach 12–15 mm, podczas gdy w przypadku szczepu A101 tylko w granicach 4–6 mm.

Na podstawie uzyskanych wyników stwierdzono, że preparaty ze szczepu PII6a charakteryzowały się wyższą aktywnością specyficzną wobec hemoglobiny i kazeiny oraz wyższą aktywnością lipolityczną niż preparaty enzymów uzyskane ze szczepu A-101. Dlatego do przeprowadzenia hydrolizy skór wieprzowych w planowanym doświadczeniu wybrano preparat enzymatyczny otrzymany z płynu pohodowlanego szczepu PII6a. Sporządzone z niego modelowe preparaty enzymatyczne poddano oznaczeniom aktywności w szerszym zakresie pH, a uzyskane wyniki przedstawiono w tab. 2.

Tabela 2

Aktywność proteolityczna preparatów enzymatycznych otrzymanych ze szczepu PII6a drożdży *Yarrowia lipolytica*.

Proteolytic activity of enzymatic preparations obtained from the PII6a strain of *Yarrowia lipolytica* yeast.

| Substrat Substrate | pH | Rodzaj preparatu enzymatycznego Type of enzymatic preparation | | | | | | | |
|---------------------------|-----|--|---|--|---|--|---|--|---|
| | | E1 | | E2 | | E3 | | E4 | |
| | | [j.a./cm ³] [u.a./cm ³] | [j.a./mg białka] [u.a./mg protein] | [j.a./cm ³] [u.a./cm ³] | [j.a./mg białka] [u.a./mg protein] | [j.a./cm ³] [u.a./cm ³] | [j.a./mg białka] [u.a./mg protein] | [j.a./cm ³] [u.a./cm ³] | [j.a./mg białka] [u.a./mg protein] |
| Hemoglobina Hemoglobin | 3,0 | 2117 | 1570 | 2107 | 2092 | 1973 | 919 | 4517 | 1002 |
| | 4,0 | 1233 | 915 | - | - | - | - | 2167 | 481 |
| | 5,0 | 783 | 581 | - | - | - | - | 533 | 118 |
| Kazeina Casein | 6,0 | 250 | 186 | 264 | 288 | 211 | 111 | 433 | 96 |
| | 8,0 | 100 | 74 | - | - | - | - | 300 | 63 |
| Kolagen Collagen | 5,0 | 0 | 0,00 | - | - | - | - | 0 | 0,00 |

Aktywność specyficzną ocenianych preparatów enzymatycznych wobec hemoglobiny wzrastała wraz z obniżeniem pH środowiska i najwyższe wartości zanotowano przy pH = 3,0 w przypadku preparatu E1 i E2, czyli pochodzących z

hodowli drożdży na podłożu z olejem. Kazeina również okazała się substratem najbardziej podatnym na działanie enzymów E1 i E2, podobnie przy obniżaniu pH ich aktywność wzrastała. Ponadto potwierdzono brak aktywności hydrolitycznej wobec żelatyny. Preparaty enzymatyczne z drożdży hodowanych na podłożu z glukozą (PG) zawierały ponad dwukrotnie więcej białka enzymatycznego niż preparat uzyskany z podłoża z olejem (PO), co potwierdza, że organizmy te lepiej rosną w środowisku z cukrami prostymi [24].

Ocena stopnia degradacji skór wieprzowych poddanych działaniu preparatów enzymatycznych

Wyniki oznaczeń zawartości białka, wolnych grup aminowych i hydroksyproliny w roztworach po hydrolizie przedstawiono w tab. 3.

Tabela 3

Charakterystyka roztworów po hydrolizie skór wieprzowych.
Profiles of solutions after the hydrolysis of pigskins.

A. Po degradacji skór rozdrobnionych w wilku.

A. After comminuting pigskins in a grinder.

| Zmienna zależna Dependent variable | Wariant hydrolizy Variant of hydrolysis | Rodzaj preparatu enzymatycznego Type of enzymatic preparation | | | |
|---|--|--|----------|----------|----------|
| | | E1 | E2 | E3 | E4 |
| Białko ogółem Total protein [µg] | A | 751,31a | 606,90bc | 620,9b | 721,75a |
| | B | 648,71b | 560,27cd | 519,71cd | 667,81ab |
| | C | 422,33d | 376,66d | 513,16cd | 462,80cd |
| Grupy aminowe Amine groups [µg Gly] | A | 32,92a | 25,45b | 26,79b | 34,09a |
| | B | 28,34b | 28,06b | 29,18ab | 33,96a |
| | C | 19,51c | 20,40c | 19,72c | 19,57c |
| Hydroksyprolina Hydroxyproline [µg] | A | 1,91d | 2,37ab | 2,54a | 1,95cd |
| | B | 1,80d | 2,13abc | 2,46a | 1,87d |
| | C | 2,18abc | 2,34ab | 2,47a | 1,55e |

B. Po degradacji skór pokrojonych w paski.

B. After the degradation of pigskins cut in strips.

| Zmienna zależna Dependent variable | Wariant hydrolizy Variant of hydrolysis | Rodzaj preparatu enzymatycznego Type of enzymatic preparation | | |
|--|--|--|---------|---------|
| | | E2 | E3 | E4 |
| Białko ogółem Total protein [µg] | D | 99,16d | 145,00c | 152,03c |
| | E | 307,20b | 294,20b | 347,23a |

| | | | | |
|---|---|--------|--------|--------|
| Grupy aminowe Amine groups [µg Gly] | D | 18,73e | 21,48d | 25,28c |
| | E | 31,10b | 32,88a | 34,23a |
| Hydroksypolina Hydroxyproline [µg] | D | 0,68de | 0,72d | 0,84b |
| | E | 0,76c | 0,78c | 0,90a |

Jednakowe litery dla każdej zmiennej zależnej oznaczają grupy jednorodnie dla zmiennych niezależnych (rodzaj preparatu enzymatycznego i wariant hydrolizy);

The same letters used with each individual dependant variable designate homogenous groups for independent variables (type of enzymatic preparation and variant of hydrolysis).

Porównując efektywność degradacji skór poddanych działaniu enzymów doświadczalnych należy zauważyć, że poziom przyrostu białka i wolnych grup aminowych w roztworach był zawsze najintensywniejszy w przypadku zastosowania enzymu E1, czyli uzyskanego z hodowli na podłożu z olejem i oczyszczonego w Amiconie. W następnej kolejności wysoką aktywnością hydrolityczną wobec doświadczalnego surowca charakteryzował się enzym E4, będący mieszaniną preparatów uzyskanych z hodowli na obu podłożach (PO i PG). Natomiast preparaty E2 i E3 zastosowane osobno degradowały skóry w mniejszym stopniu i na porównywalnym poziomie. Odmiennie kształtowała się aktywność ocenianych preparatów wobec białek kolagenowych skór, gdzie preparaty E2 i E3 uwalniały największą ilość hydroksypoliny. Oceniając efektywność przyjętych w tym etapie badań wariantów hydrolizy należy podkreślić, że degradacja skór wieprzowych przebiegała najintensywniej podczas hydrolizy enzymatycznej prowadzonej w wyższej temperaturze (wariant A). Wydłużanie czasu trwania procesu poprzez prowadzenie hydrolizy kwasowej (wariant B), jak również wydłużanie czasu hydrolizy enzymatycznej przy jednoczesnym obniżeniu temperatury (wariant C), nie przyczyniło się do wzrostu degradacji białek skór. Analiza statystyczna wyników dowiodła, że zróżnicowane parametry procesu degradacji skór nie wpłynęły na aktywność kolagenolityczną poszczególnych preparatów (E1, E2, E3, E4). Była ona na zbliżonym poziomie w każdym z wariantów hydrolizy. Natomiast wykazano istotne różnice w aktywności proteolitycznej preparatów, wyrażonej ilością przyrostów białka i wolnych grup aminowych w roztworach, przy zróżnicowaniu warunków prowadzonego procesu.

W związku z brakiem oczekiwanej poprawy efektywności hydrolizy białek skór poprzez wprowadzenie hydrolizy kwasowej, w drugiej części doświadczenia, w której surowiec rozdrobniono w paski 1 x 5 cm, zastosowano tylko hydrolizę enzymatyczną prowadzoną w temperaturze 20°C w ciągu 8 i 24 h. Wydłużenie procesu przyniosło oczekiwany, istotny statystycznie, przyrost poziomu zawartości białka, hydroksypoliny i wolnych grup aminowych w roztworach. Ponadto nie stwierdzono istotnych różnic w zdolnościach hydrolitycznych porównywanych preparatów

enzymatycznych, chociaż wyższe wartości notowano przy zastosowaniu preparatów E4 i E3 (tab. 3). Poziom degradacji białek prób w tych wariantach hydrolizy (D i E) był istotnie niższy niż w przypadku skór bardziej rozdrobnionych (warianty hydrolizy A, B lub C).

Oznaczenia zawartości białka ogółem i kolagenu w skórach pozostałych po hydrolizie potwierdziły zmiany ilości tych składników wynikające z przejścia do roztworu (tab. 4).

Ekstrakcja białek z surowca była wynikiem nie tylko działania preparatu enzymatycznego, ale również buforu, w którym prowadzona była hydroliza skór. Wiadomo, że zastosowanie kwasów i buforów pozwala na rozpuszczenie mniej usieciowanych fragmentów kolagenu, a stwierdzona niska aktywność kolagenolityczna doświadczalnych preparatów enzymatycznych wskazuje bardziej na wpływ stosowanego buforu fosforanowo-cytrynianowego na ekstrakcję hydroksyproliny z surowca [2, 9, 21].

Tabela 4

Skład chemiczny skór wieprzowych.
Chemical composition of pigskins.

| Parametr Parameter [%] | Skóra surowa Raw pigskin | Preparat enzymatyczny Enzymatic preparation | Skóry po hydrolizie Pigskins after hydrolysis | | | | |
|------------------------------|-----------------------------------|--|--|-------|-------|-------|-------|
| | | | A | B | C | D | E |
| Białko Protein | 30,18 | E1 | 10,23 | 11,88 | 12,76 | - | - |
| | | E2 | 10,89 | 11,67 | 11,10 | 22,31 | 21,99 |
| | | E3 | 9,87 | 11,19 | 11,19 | 22,52 | 22,43 |
| | | E4 | 10,06 | 11,47 | 11,47 | 22,87 | 22,22 |
| Kolagen Collagen | 19,04 | E1 | 6,57 | 7,63 | 8,25 | - | - |
| | | E2 | 7,31 | 7,75 | 7,44 | 15,81 | 15,65 |
| | | E3 | 6,66 | 7,18 | 7,75 | 15,97 | 15,48 |
| | | E4 | 7,14 | 7,01 | 7,56 | 15,53 | 15,06 |
| Sucha masa Dry mass | 37,10 | E1 | 12,66 | 14,62 | 15,16 | - | - |
| | | E2 | 13,58 | 14,51 | 14,63 | 33,25 | 32,96 |
| | | E3 | 12,77 | 13,98 | 14,25 | 33,51 | 33,45 |
| | | E4 | 12,89 | 14,23 | 14,98 | 33,48 | 33,45 |

Wnioski

1. Preparaty enzymatyczne otrzymane z płynów pochodzących z szczepu PII6a charakteryzują się wyższą aktywnością proteolityczną i lipolityczną od uzyskanych ze szczepu A-101.
2. Aktywność kolagenolityczna doświadczalnych preparatów enzymatycznych jest nieznaczna.
3. Najwyższą aktywność proteolityczną wobec białek skór wieprzowych wykazuje preparat enzymatyczny E4 będący mieszaniną preparatów otrzymanych ze szczepu PII6a, z których jeden wyhodowano na podłożu z glukozą (E3), a drugi na podłożu z olejem słonecznikowym (E2).
4. Efektywność hydrolizy skór wieprzowych można istotnie poprawić poprzez technologiczne modyfikacje prowadzenia procesu (stopień rozdrobnienia surowca, czas i temperatura).

Praca wykonana w ramach grantu KBN 5 P06G 028 19.

Literatura

- [1] A.O.A.C.: Official Methods of Analysis 15th Edition: 1st Supplement, Hydroxyproline in Meat and Meat Products, 1990, pp. 36-37.
- [2] Bailey A., J., Light N., D.: Connective tissue in meat and meat products. Elsev. Appl. Sci., London 1989.
- [3] Bednarski W.: Enzymatyczna modyfikacja składników żywności. W: Biotechnologia żywności, pod red. W. Bednarskiego i A. Repsa. WNT, Warszawa 2001, s. 376-397.
- [4] Bichodka M.J., Khachatourians G.G.: Purification and properties of an extra-cellular proteinase produced by entomopathogenic fungi. Appl. Environ. Microbiol., 1987, **7**, 1679-1684.
- [5] Buckenhüskes H., J.: Enzyme in der Fleischverarbeitung. Fleischwirts., 2000, **3**, 29-33.
- [6] Frokjaer S.: Use of hydrolysates for protein supplementation. Food Technol., 1994, **10**, 86-88.
- [7] Gdula A., Skiba A., Chrzanowska J., Wojtatowicz M.: *Yarrowia lipolytica* – jej aktywność hydrolityczna i potencjalny udział w procesie dojrzewania serów. Mat. Konf. XXIX Sesji Nauk. KTiChŻ PAN, Olsztyn, 1998, s. 207.
- [8] Kalinowska H., Bielecki S., Turkiewicz M.: Enzymy nowej generacji w produkcji żywności. Cz. I. Przem Spoż., 2000, **10**, 3-5.
- [9] Kijowski J.: Muscle proteins. In: Chemical and functional properties of food proteins. Ed. Z.E. Sikorski, Technomic Publishing Co. Inc. Lancaster 2001, pp. 233-269.
- [10] Krasnowska G.: Kolagen – właściwości i znaczenie technologiczne. Zesz. Nauk. AR we Wrocławiu, 1998, **328**, 137-147.
- [11] Kuchroo C.V., Ramilly I.P., Fox P.F.: Assessment of proteolysis in cheese by reaction with trinitrobenzenesulphonic acid. J. Food Technol., 1983, **7**, 129-133.
- [12] Leger R.J., Cooper R.M., Charnley A.K.: Cuticle-degradation enzymes of entomopathogenic fungi. Cuticle degradation in vitro by enzymes from entomopathogen. J. Invertebr. Pathol., 1986, **47**, 167-177.
- [13] Mejsbaum-Katzenellenbogen W., Mochnacka I.: Kurs praktyczny biochemii. PWN, Warszawa 1968.

- [14] Morihara K., Tsuzuki H.: Elastolytic properties of various proteinases from microbiologic origin. Arch. Biochem. Biophys., 1967, **120**, 68-78.
- [15] Powell T.H., Hunt M.C., Dickeman M.E.: Enzymatic assay to determine collagen thermal denaturation and solubilization. Meat Sci., 2000, **54**, 307-311.
- [16] PN-ISO 1442:2000. Mięso i przetwory mięsne. - Oznaczanie zawartości wody (metoda odwoławcza).
- [17] PN-75/A-04018. Produkty rolno-żywnościowe. Oznaczanie azotu metodą Kiejdahla i przeliczanie na białko.
- [18] Robak M.: Studia nad wykorzystaniem octanu i wydzielaniem cytrynianu przez drożdże *Yarrowia lipolytica*. Zesz. Nauk. AR, Rozprawy, Wrocław 2002, 442.
- [19] Sadowska M., Kotłowski R.: Fizykochemiczne właściwości kolagenu ryb, świń i bydła. W: Żelatyna. Właściwości, technologia, użytkowanie. Polska Izba Dodatków do Żywności, Konin, 1999, 13-25.
- [20] Sawicka – Żukowska R.: Zastosowanie preparatów enzymatycznych w przemyśle rolno-spożywczym. Przem. Spoż., 1998, **3**, 19-22.
- [21] Sikorski Z.E.: Charakterystyka białek głównych surowców żywnościowych. W: Chemia żywności, pod red. Z.E. Sikorskiego, WNT, Warszawa 2002, 304-333.
- [22] Snyder S. L., Sobociński P.Z.: An improved 2,4,6-trinitrobenzosulphonic acid method for determination of amines. Analys. Bioch., 1975, **64**, 285-288.
- [23] Warchalewski J.R.: Zastosowanie enzymów w produkcji żywności na przełomie wieków. Przem. Spoż., 2001, **8**, 40-44.
- [24] Wojtatowicz M., Chrzanowska J., Juszczyk P., Skiba A., Gdula A.: Identification and biochemical characteristic of yeast microflora of Rocpol cheese, J. Food Microbiol., 2001, **69**, 135-140.

PROTEOLYTIC QUALITIES OF ENZYMATIC PREPARATIONS OBTAINED FROM VARIOUS STRAINS OF THE *YARROWIA LIPOLYTICA* YEAST

S u m m a r y

The objective of the investigations was to compare the hydrolytic activity of enzymatic preparations obtained from post-culture fluids of two yeast strains: *Yarrowia lipolytica* PII6a and A-101, and to test the possibility of using them in the hydrolysis of pigskins. The enzymatic preparations were obtained from the yeast cultured in media with two different sources of carbon (oil or glucose). It was stated that the collagenolytic activity of all enzymatic preparations investigated was low. Their proteolytic and lipolytic activity was determined, and, on this basis, the preparations obtained from the PII6a strain were selected for the hydrolysis of pigskins. The efficiency of enzymatic hydrolysis of pigskins, expressed as an amount of: released hydroxyproline, free amine groups, and protein, was the highest in the case of applying a mixture of enzymatic preparations obtained from the cultures developed in the two media as indicated above. Moreover, it was stated that the appropriate selection of the fitting process conditions (temperature, pH, and raw material comminution) might significantly enhance the process efficiency. The results of the investigations performed confirm that this inexpensive source of enzymes could be widely used for the degradation of proteins in pigskins.

Key words: proteolytic enzymes, collagenolytic activity, enzymatic hydrolysis, pigskins 

TADEUSZ SZMAŃKO, ZBIGNIEW DUDA, JAROSŁAW SZCZEPAŃSKI

WPLYW PRZECHOWYWANIA WĘDZONEK W TEMPERATURZE BLISKIEJ KRIOSKOPOWEJ I W STANIE ZAMROŻONYM NA ICH JAKOŚĆ SENSORYCZNA

Streszczenie

Oceniono jakość sensoryczną przetworów mięsnych przechowywanych w niebarierowym opakowaniu pergaminowym. Wędzonki (szynka, baleron, boczek) magazynowano w formie peklowanych półproduktów, w temperaturze bliskiej krioskopowej (-3°C) przez 4 tygodnie i w temp. -18°C przez 4 i 8 tygodni. Materiał doświadczalny przechowywano również w formie wyrobów finalnych w ww. zakresach temperatury (-3, -18°C) przez 4 i 8 tygodni. Po ukończeniu składowania półprzetwory wędzono i poddawano obróbce cieplnej. Oceniano je także po dodatkowym 7-dobowym magazynowaniu w chłodziarce (w temp. 3°C). Przechowywanie wędzonek w doświadczalnych warunkach nie powodowało dyskwalifikującego pogorszenia ich jakości sensorycznej.

Słowa kluczowe: wędzonki, przechowywanie, analiza sensoryczna.

Wstęp

Zagadnienia związane z przechowywaniem mięsa i przetworów mięsnych postrzegane są jako jedne z najważniejszych w przemyśle mięsnym [4]. Poszukuje się takich technologii utrwalania, które zapewniłyby odpowiednią trwałość i jakość produktów [3, 5, 6, 9, 14, 15]. Współczesne technologie umożliwiają, w sposób kontrolowany, oddziaływać na tempo i zakres zmian zachodzących w przetworach mięsnych, które są wynikiem procesów życiowych drobnoustrojów, aktywności enzymów oraz czynników fizycznych i chemicznych [6]. Do rozwiązań technologicznych, zabezpieczających wysoką jakość przetworów mięsnych nawet przez okres kilku tygodni przechowywania, bardziej racjonalnych aniżeli zamrażanie, można zaliczyć ich składowanie w stanie głębokiego schłodzenia tj. w temperaturze bliskiej krioskopowej (t.b.k.) [15]. Zastosowanie tej technologii utrwalania wędzonek

umożliwia zachowanie wymaganej jakości produktów i znaczne zmniejszenie nakładów energii, niezużywaną na zamrożenie i przechowywanie w stanie zamrożonym oraz na przeddystrybucyjne rozmrażanie [13].

Podczas magazynowania wędzonek w t.b.k. (-3°C), temperatura wewnątrz produktu jest obniżona do poziomu, w którym wydłuża się faza zastoju w rozwoju i funkcjach życiowych mikroorganizmów oraz zmniejsza się szybkość reakcji fizycznych, chemicznych i biochemicznych, i w efekcie zwiększa się trwałość przetworów mięsnych [1, 5, 7].

Dane piśmiennictwa wskazują zarówno na pewne podobieństwo, jak i na odmienną rolę wpływu warunków zamrażalniczych oraz krioskopowego przechowywania przetworów mięsnych na ich wyróżniki fizykochemiczne, technologiczne oraz sensoryczne [15].

W literaturze przedmiotu brak jest jednak danych dotyczących jakości wędzonek składowanych w t.b.k., zwłaszcza w warunkach przemysłowych, a ponadto uwzględniających ich trwałość podczas późniejszego przechowywania w domowych chłodziarkach.

Celem badań była ocena wpływu przechowywania wędzonek w formie peklowanych półproduktów (P), w temp. -3°C , przez 4 tygodnie lub w temp. -18°C przez 4 i 8 tygodni oraz w formie produktów finalnych (F) w ww. zakresach temperatury (-3°C , -18°C), przez 4 i 8 tygodni, na wyróżniki sensoryczne przetworów będących przedmiotem badań. Ponadto doświadczalne wędzonki oceniano po dodatkowym, siedmiodobowym ich przechowywaniu w chłodziarce w temp. 3°C .

Materiał i metody badań

Materiałem doświadczalnym były wędzonki wyprodukowane w trzech szarżach produkcyjnych w warunkach przemysłowych (w zakładzie mięsnym na terenie Dolnego Śląska) z elementów wieprzowych, z mięśni szynki – szynka gotowana (S), z karkówki – baleron (B) z boczku – boczek wędzony (b). Średnia masa gotowych wyrobów wynosiła odpowiednio 2,2 kg (S); 1,5 kg (B) i 1,7 kg (b). Elementy do produkcji wędzonek pochodziły z tusz loszek i wieprzków rasy wbp o masie przedubojowej 110–120 kg. Do badań wykrawano elementy z tusz, których pH_{45} mięśnia najdłuższego klatki piersiowej, zmierzone na wysokości ostatniego kręgu piersiowego, wynosiło 6,3. Na przetwory przeznaczone do przechowywania w formie produktów finalnych (F) wykorzystywano elementy wykrojone z prawej półtuszy, a na peklowane półprodukty (P) z lewej. Proces produkcyjny wędzonek przebiegał w warunkach przemysłowych. Elementy nastrokiwano solanką o składzie: woda – 85,5%; peklosól – 11,3%; polifosforany – 1,6%; sacharoza – 1,1%; glutaminian sodu – 0,055%; askorbinian sodu – 0,22%. Stosowano nastroki 20% solanki w stosunku do

maszy elementów. Nastrzyknięte mięśnie masowano w ciągu 10 godzin w cyklu 20 min – praca (4 obroty bębna masownicy, przy 95% próżni), 10 min – relaksacja (w warunkach ciśnienia atmosferycznego). Proces peklowania surowca grupy doświadczalnej P i F przebiegał w takim samym cyklu produkcyjnym. Przetwory wędzono dymem o temp. 50°C przez 3 godz. Wszystkie wędzonki parzono w temp. 85°C do momentu uzyskania temp. 70°C w centrum geometrycznym przetworu. Następnie wyroby chłodzono pod natryskiem zimnej wody (o temp. 17°C) do temp. 25°C w centrum geometrycznym przetworu. Wychładzanie wędzonek kontynuowano w powietrzu o temp. 4°C przez 24 godz.

Materiał doświadczalny przechowywano w formie przetworów finalnych (F) opakowanych w papier pergaminowy lub jako peklowane półprodukty (P), bez opakowania bezpośredniego. Opakowane i nieopakowane przetwory przechowywano w aluminiowych zamkniętych pojemnikach.

Przyjęto dwuetapowy okres przechowywania materiału doświadczalnego. W I etapie składowano go w temp. bliskiej krioskopowej (t.b.k.), tj. $-3 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ lub w stanie zamrożonym ($-18 \pm 1^{\circ}\text{C}$), przez 4 tyg. (grupy doświadczalne -3P4, -3F4, -18P4, -18F4) oraz przez 8 tyg. (grupy doświadczalne -3F8, -18P8, -18F8)*. W każdej grupie doświadczalnej populację eksperymentalną stanowiło 9 przetworów.

Po zakończeniu I okresu przechowywania, składowane, zamrożone, finalne przetwory i peklowane półprodukty rozmrażano w temp. $3 \pm 1^{\circ}\text{C}$. Peklowane półprodukty (P) wędzono i poddawano standardowej obróbce cieplnej identycznie jak w przypadku produktów finalnych. Połowę każdego przetworu w obrębie poszczególnych grup doświadczalnych oceniano sensorycznie, a pozostałą część indywidualnie pakowano w papier pergaminowy, umieszczano w chłodziarce w temp. $3 \pm 1^{\circ}\text{C}$ i składowano przez 7 dób (II etap przechowywania).

W pierwszym etapie doświadczenia (I) próbami odniesienia (K_I) do przetworów przechowywanych było 9 wędzonek (w obrębie każdego sortymentu) wyprodukowanych w 3 szarżach produkcyjnych, w tym 3** wyprodukowano z przetworami przeznaczonymi do przechowywania (oceniano je po zakończonym procesie produkcyjnym i wychłodzeniu); następne 3** peklowano przed zakończeniem 4-tyg. okresu przechowywania peklowanych półproduktów, poddawano je wędzeniu i obróbce cieplnej razem z przetworami przechowywanymi przez 4 tyg. (-3P4, -18P4); pozostałe 3** peklowano przed zakończeniem 8-tyg. okresu przechowywania peklowanych półproduktów, poddawano je wędzeniu i obróbce cieplnej razem z przetworami przechowywanymi przez 8 tyg. (-18 P8). Mniej więcej połowę każdego z

* Ze względu na pogorszenie jakości peklowanych półproduktów przechowywanych w t.b.k. przez 8 tyg., okres składowania ww. formy wyrobu w temp. -3°C ograniczono do 4 tygodni.

** Wybrano 3 wędzonki z grupy 9 przetworów, takie których wartości średnie oceny sensorycznej były najbardziej zbliżone do średniej oceny tej grupy.

tych produktów, zawinięta w papier pergaminowy, umieszczano w chłodziarce w temp. 3°C i przechowywano przez 7 dób. Były one próbami odniesienia (K_{II}) do przetworów II etapu doświadczenia.

Analizę sensoryczną przeprowadzano metodą punktowania [10]. Zastosowano skalę 5-punktową, zarówno do oceny natężenia (intensywności, 1 = intensywność ledwo wyczuwalna lub progowa, 2 = intensywność słaba, 3 = intensywność umiarkowana, 4 = intensywność silna, 5 = intensywność bardzo silna), jak również pożądalności (1 = niepożądany, 2 = bardzo słabo pożądanym, 3 = słabo pożądanym, 4 = pożądanym, 5 = bardzo pożądanym). Analizę sensoryczną przeprowadzał 6-osobowy zespół [2, 10], oceniając wszystkie wyroby wchodzące w skład poszczególnych grup doświadczalnych. Do analizy sensorycznej przetwory były przygotowywane w formie połówki batonów oraz plastrów o grubości 2,5 mm. Plastry podawano do oceny w jednorazowych pojemnikach. Oceniane próby były oświetlane białym światłem jarzeniowym o natężeniu 250 lx.

W analizie sensorycznej uwzględniono: wygląd zewnętrzny (1), kruchość (2), soczystość (3), barwę (4), smakowość (5), zapach (6) i słoność (7). W przypadku wyróżników od 4 do 7 stosowano kryterium natężenia (intensywności) i pożądalności.

Wyniki badań poddano analizie statystycznej (wartość średnia, odchylenie standardowe, analiza wariancji). Czynniki zmienności były: stopień przetworzenia przechowywanych produktów (P, F), temperatura przechowywania (-3, -18°C), okresy przechowywania (4, 8 tyg;), etapy przechowywania (I, II). O istotności różnic pomiędzy średnimi wnioskowano przy $p \leq 0,05$. Populację doświadczalną w każdej grupie stanowiło 9 wędzonek.

Wyniki i dyskusja

Przechowywanie szynki, baleronów i boczku w doświadczalnych warunkach nie powodowało pogorszenia wyglądu zewnętrznego przetworów grup doświadczalnych, odpowiednio: -3P4, -3F4, -18F4, -18P8 (S); -18F4, -18P8, -18F8 (B); -3P4, -18F4, -18P8, -18F8 (b). Składowanie to powodowało natomiast obniżenie wartości omawianego wyróżnika wędzonek grup doświadczalnych, odpowiednio: -18P4, -3F8, -18F8 (S); -3F4, -18 P4, -3F8 (B); -3F4, -18P4, -3F8 (b). Na uwagę zasługują wysokie oceny przetworów przechowywanych w formie peklowanych półproduktów w stanie zamrożonym przez 8 tyg. Stopień przetworzenia szynki i baleronów magazynowanych przez 4 tyg. w temp -3°C nie miał wpływu na ich wygląd zewnętrzny. Miał natomiast znaczenie w przypadku boczku, bowiem wyżej oceniono ww. przetwory przechowywane w formie peklowanych półproduktów. Podczas 4 tyg. składowania peklowanych półproduktów w t.b.k. zmiany degradacyjne były nieznaczne i nie miały wpływu na jakość finalnego przetworu, tj. po wędzeniu i obróbce cieplnej. Dodatkowe

7-dniowe przechowywanie wędzonek w warunkach chłodniczych powodowało pogorszenie ich wyglądu zewnętrznego o $0,1 \div 0,4$ pkt. Odnotowano trudne do wytłumaczenia pojedyncze przypadki wyższej oceny przetworów w II etapie badań. Prawdopodobnie były one spowodowane zróżnicowaniem budowy anatomicznej elementów zasadniczych (w poszczególnych ich częściach), użytych do produkcji baleronów i boczków.

Ocena wyglądu zewnętrznego wędzonek przechowywanych w temp. -3 i -18°C była o około $0,2 \div 0,4$ pkt. niższa w porównaniu z danymi literaturowymi dotyczącymi polędwic sopockich przechowywanych w identycznych warunkach termicznych, ale w opakowaniach próżniowych.

W cytowanych badaniach własnych przetwory poddane obróbce cieplnej po przechowywaniu były pod względem wyglądu zewnętrznego wyżej ocenione w porównaniu ze składowanymi po obróbce cieplnej [15]. W cytowanej pracy i w referowanych badaniach ocenę przeprowadzał ten sam zespół.

Natężenie barwy przetworów przechowywanych w stanie zamrożonym, w porównaniu ze składowanymi w t.b.k., (szczególnie w formie produktów finalnych) oceniono nieznacznie wyżej. Powyższe tendencje były charakterystyczne dla wszystkich trzech doświadczalnych sortymentów wędzonek (tab. 1a).

Dalsze przechowywanie wędlin w warunkach chłodniczych (II etap) wywierało zróżnicowany wpływ na natężenie barwy, bowiem odnotowano zarówno przypadki wzrostu (S: -3F4, -18P8; B:-3F8), jak i zmniejszenia (S: -18F4; B: -3P4, -18P4, -18P8, -18F8; b: -K) wartości ww. wyróżnika. Większa wartość natężenia barwy wędzonek po przechowywaniu chłodniczym mogła być spowodowana wzrostem stężenia barwników w wyniku odparowania wody z przetworów niezapakowanych hermetycznie. Natomiast zmniejszenie natężenia barwy mogło wynikać ze zmian przechowalniczych, np. utlenienia barwników.

Przechowywanie zarówno krioskopowe, jak i w stanie zamrożonym nie miało wpływu na ocenę pożądalności barwy szynki, która w wyrobach magazynowanych była o 0,1 pkt. niższa w porównaniu z próbą kontrolną i wynosiła 4,2 pkt. Natomiast pożądalność barwy przechowywanych baleronów wahała się od 4,2 do 4,4 pkt. (tab. 1a).

Ocena sensoryczna pożądalności barwy boczków przechowywanych była nieznacznie niższa aniżeli pozostałych sortymentów. Była ona również bardziej zróżnicowana, wahała się od 3,9 do 4,3 pkt. Najniżej oceniono wyroby grup doświadczalnych -3F4 i -18P4, tj. odpowiednio 3,9 i 4,0 pkt.

Zróżnicowanie pożądalności barwy boczku mogło w znacznym stopniu być spowodowane zmiennością osobniczą lub zmiennością w obrębie tego samego elementu. W skład boczku wchodzi trzy mięśnie – skośny zewnętrzny i wewnętrzny oraz poprzeczny. Pod względem budowy mięśnie te mogą bardzo znacznie różnić się (zarówno osobniczo, jak i w obrębie tego samego elementu wyrębowego) grubością

oraz stopniem przerośnięcia tkanką tłuszczową, co w konsekwencji mogło mieć wpływ na ocenę pożądalności barwy tej wędzonki. Dodatkowe przechowywanie doświadczalnych przetworów w temp. 3°C przez 7 dób nie powodowało obniżenia oceny pożądalności barwy w porównaniu z oceną ww. przetworów przed składowaniem chłodniczym, albo przyczyniało się do zmniejszenia ocen, o 0,1–0,2 pkt. W grupie doświadczalnej -3F4 odnotowano istotne zwiększenie się pożądalności barwy boczków, co mogło być spowodowane wcześniej wspomnianą zmiennością osobniczą struktury tego elementu zasadniczego oraz zróżnicowaniem budowy w poszczególnych jego częściach.

Tabela 1a

Wyniki analizy sensorycznej wędzonek.
Sensory analysis of processed meat products.

| Wyszczególnienie Specification | | Grupy doświadczalne Experimental groups | | | | | | | | |
|--|----|--|--------------------|----------------------|--------|--------|-------|--------|--------|--------|
| | | K | -3P4 | -3F4 | -18P4 | -18F4 | -3F8 | -18P8 | -18F8 | |
| wyróżnik sensoryczny / traits | | | | | | | | | | |
| wygląd zewnętrzny / overall appearance | | | | | | | | | | |
| S | I | X | 4,6bc ^o | 4,3abB ^{oo} | 4,4bc | 4,0a | 4,6bc | 4,0a | 4,7cB | 4,0aA |
| | | SD | 0,3 | 0,5 | 0,3 | 0,4 | 0,1 | 0,3 | 0,3 | 0,3 |
| | II | X | 4,3b | 3,9aA | 4,1ab | 3,9a | 4,3b | 4,0a | 4,0aA | 4,3bB |
| | | SD | 0,3 | 0,2 | 0,4 | 0,2 | 0,4 | 0,1 | 0,1 | 0,3 |
| B | I | X | 4,6c | 4,2bB | 4,0ab | 4,2b | 4,5bc | 3,7aA | 4,5bcB | 4,6cB |
| | | SD | 0,3 | 0,4 | 0,2 | 0,2 | 0,2 | 0,1 | 0,3 | 0,1 |
| | II | X | 4,3c | 3,8aA | 4,0ab | 4,0ab | 4,2bc | 4,0abB | 3,9aA | 4,2bcA |
| | | SD | 0,2 | 0,1 | 0,4 | 0,1 | 0,3 | 0,1 | 0,1 | 0,3 |
| b | I | X | 4,6cB | 4,3cB | 3,8abA | 4,1b | 4,2bc | 3,5aA | 5,0dB | 4,5cB |
| | | SD | 0,1 | 0,4 | 0,3 | 0,6 | 0,4 | 0,3 | 0,1 | 0,1 |
| | II | X | 4,3bcA | 3,9aA | 4,3bcB | 4,0a | 4,4c | 3,9aB | 4,0aA | 4,2bA |
| | | SD | 0,2 | 0,2 | 0,2 | 0,1 | 0,2 | 0,1 | 0,1 | 0,2 |
| barwa – natężenie / colour – intensity | | | | | | | | | | |
| S | I | X | 4,1ab | 4,1ab | 4,0aA | 4,0a | 4,3bB | 3,9a | 4,0aA | 4,1ab |
| | | SD | 0,3 | 0,3 | 0,2 | 0,3 | 0,3 | 0,5 | 0,3 | 0,4 |
| | II | X | 4,2b | 4,0a | 4,3bB | 4,1ab | 3,9aA | 4,0a | 4,2bB | 4,2b |
| | | SD | 0,3 | 0,4 | 0,3 | 0,3 | 0,2 | 0,3 | 0,4 | 0,2 |
| B | I | X | 4,6c | 4,2bB | 4,0b | 4,2bB | 4,5c | 3,7aA | 4,5cB | 4,6cB |
| | | SD | 0,3 | 0,4 | 0,2 | 0,2 | 0,2 | 0,1 | 0,3 | 0,1 |
| | II | X | 4,3c | 3,8aA | 4,0ab | 4,0abA | 4,2b | 4,0abB | 3,9aA | 4,2bA |
| | | SD | 0,2 | 0,1 | 0,4 | 0,1 | 0,3 | 0,1 | 0,1 | 0,3 |

| | | | | | | | | | | |
|---|----|----|-------|-------|------|------|------|-------|------|-------|
| b | I | X | 4,4cB | 4,2bc | 3,9a | 3,8a | 4,1b | 4,0ab | 3,9a | 4,2bc |
| | | SD | 0,2 | 0,4 | 0,5 | 0,4 | 0,5 | 0,3 | 0,4 | 0,4 |
| | II | X | 4,1aA | 4,2b | 4,1a | 4,0a | 4,2b | 4,1a | 4,1a | 4,2b |
| | | SD | 0,2 | 0,3 | 0,3 | 0,4 | 0,3 | 0,2 | 0,2 | 0,2 |

c.d. tabeli 1

| barwa – pożądalność / colour desirability | | | | | | | | | | |
|---|----|----|--------|-------|--------|-------|-------|-------|------|-------|
| S | I | X | 4,3 | 4,2 | 4,2 | 4,2 | 4,2 | 4,2 | 4,2 | 4,2 |
| | | SD | 0,4 | 0,4 | 0,2 | 0,3 | 0,3 | 0,2 | 0,2 | 0,2 |
| | II | X | 4,2b | 4,2b | 4,3bc | 4,2b | 4,2b | 4,0a | 4,1a | 4,1a |
| | | SD | 0,2 | 0,2 | 0,1 | 0,1 | 0,2 | 0,2 | 0,3 | 0,3 |
| B | I | X | 4,3 | 4,3B | 4,2 | 4,3 | 4,2 | 4,2 | 4,3 | 4,4 |
| | | SD | 0,3 | 0,2 | 0,1 | 0,2 | 0,2 | 0,2 | 0,3 | 0,1 |
| | II | X | 4,4c | 4,1aA | 4,1a | 4,2ab | 4,1a | 4,1a | 4,4c | 4,3bc |
| | | SD | 0,2 | 0,2 | 0,3 | 0,3 | 0,1 | 0,2 | 0,2 | 0,1 |
| b | I | X | 4,6dB | 4,3cb | 3,9aA | 4,0a | 4,2b | 4,2b | 4,2b | 4,3cb |
| | | SD | 0,3 | 0,1 | 0,1 | 0,4 | 0,3 | 0,2 | 0,2 | 0,2 |
| | II | X | 4,2abA | 4,3b | 4,2abB | 4,1a | 4,2ab | 4,2ab | 4,3b | 4,3ab |
| | | SD | 0,3 | 0,2 | 0,3 | 0,2 | 0,2 | 0,1 | 0,1 | 0,2 |

S – szynka / ham; B – baleron / collar; b – boczek /streaky bacon;

I – Materiał doświadczalny przechowywany w temp. -3°C lub - 18°C (I etap) / Experimental material stored at temp. -3°C or - 18°C (Ist stage);

II – Materiał doświadczalny przechowywany następnie w temp. 3°C przez 7 dni (II etap) / Smoked meat products stored at temp. 3°C (IInd stage);

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

Wartości średnie na tym samym poziomie w sąsiednich kolumnach, oznaczone różnymi małymi literami różnią się istotnie przy $p \leq 0,05$.Means in neighbouring columns on the same level followed by small letters are significantly differing at $p \leq 0.05$.Wartości średnie w tej samej kolumnie oznaczone różnymi dużymi literami różnią się statystycznie istotnie $p \leq 0,05$.Means in the some column followed by differentiated capital letters are significantly different at $p \leq 0.05$.

Punktowa ocena sensoryczna barwy doświadczalnych przetworów była podobna jak szynek przechowywanych w opakowaniach próżniowych, również w temp. -3°C [14]*. Była ona jednak znacznie niższa aniżeli polędwic sopockich składowanych zarówno w temp. -3°C, jak i w stanie zamrożonym [15]*.

Natężenie zapachu przechowywanych wędzonek nie odbiegało znacznie od oceny ww. wyróżnika przetworów kontrolnych (tab. 1b). Użycie pergaminu jako opakowania

* W obu przypadkach, tj. w referowanej pracy, jak również w cytowanych badaniach własnych ocena sensoryczna była wykonywana przez ten sam zespół.

bezpośredniego powodowało zmniejszenie natężenia zapachu w miarę upływu czasu przechowywania wędzonek (S, B, b) w formie przetworów finalnych.

Zastosowane czynniki doświadczalne nie wpłynęły znacząco na natężenie zapachu przetworów przechowywanych w formie peklowanych półproduktów. Było to najprawdopodobniej spowodowane obróbką cieplną i wędzeniem przetworów po ukończeniu przechowywania.

Tabela 1b

Wyniki analizy sensorycznej wędzonek.
Sensory analysis of processed meat products.

| Wyszczególnienie Specification | | Grupy doświadczalne / Experimental groups | | | | | | | | |
|---|----|---|--------|--------|-------|--------|--------|-------|--------|--------|
| | | K | -3P4 | -3F4 | -18P4 | -18F4 | -3F8 | -18P8 | -18F8 | |
| wyróżnik sensoryczny / traits | | | | | | | | | | |
| zapach – natężenie / odour – intensity | | | | | | | | | | |
| S | I | X | 4,2cB | 4,2cB | 4,0bc | 4,0bc | 4,1cB | 3,7a | 4,0bc | 3,9b |
| | | SD | 0,4 | 0,2 | 0,1 | 0,2 | 0,2 | 0,2 | 0,1 | 0,3 |
| | II | X | 3,9bcA | 3,9bcA | 3,9bc | 4,0c | 3,9bcA | 3,7a | 4,0c | 3,9bc |
| | | SD | 0,2 | 0,3 | 0,2 | 0,3 | 0,2 | 0,1 | 0,2 | 0,1 |
| B | I | X | 4,0cdB | 4,1dB | 3,8b | 4,1dB | 4,0cd | 3,8b | 3,9bcB | 3,6aA |
| | | SD | 0,3 | 0,1 | 0,1 | 0,2 | 0,2 | 0,1 | 0,2 | 0,1 |
| | II | X | 3,8abA | 3,8abA | 3,8ab | 3,8abA | 3,9b | 3,8ab | 3,7aA | 3,8abB |
| | | SD | 0,1 | 0,3 | 0,2 | 0,2 | 0,1 | 0,1 | 0,1 | 0,1 |
| b | I | X | 4,1b | 4,0ab | 3,9a | 4,1bB | 4,0abB | 4,0ab | 4,1b | 3,9a |
| | | SD | 0,3 | 0,3 | 0,2 | 0,2 | 0,3 | 0,1 | 0,3 | 0,2 |
| | II | X | 4,0ab | 4,0ab | 4,0ab | 3,9aA | 3,9aA | 4,0ab | 4,1b | 4,0ab |
| | | SD | 0,2 | 0,2 | 0,3 | 0,3 | 0,3 | 0,1 | 0,2 | 0,2 |
| zapach – pożądalność / odour – desirability | | | | | | | | | | |
| S | I | X | 4,3bB | 4,3b | 4,2ab | 4,2abA | 4,2ab | 4,1aB | 4,2ab | 4,2abB |
| | | SD | 0,3 | 0,2 | 0,1 | 0,1 | 0,3 | 0,3 | 0,3 | 0,2 |
| | II | X | 4,0abA | 4,2cd | 4,1bc | 4,4cB | 4,3dc | 3,9aA | 4,2cd | 4,0abA |
| | | SD | 0,2 | 0,3 | 0,2 | 0,2 | 0,1 | 0,1 | 0,1 | 0,1 |
| B | I | X | 4,2bcB | 4,0aA | 4,1ab | 4,2bc | 4,3c | 4,1aB | 4,2bc | 4,2bc |
| | | SD | 0,2 | 0,3 | 0,2 | 0,2 | 0,1 | 0,1 | 0,2 | 0,1 |
| | II | X | 4,0bcA | 4,2dB | 3,9ab | 4,1cd | 4,2d | 3,8aA | 4,1cd | 4,1cd |
| | | SD | 0,2 | 0,2 | 0,2 | 0,1 | 0,1 | 0,2 | 0,1 | 0,2 |
| b | I | X | 4,2cd | 3,8a | 4,1bc | 4,2cd | 4,1bc | 4,0b | 4,3dB | 4,1bc |
| | | SD | 0,2 | 0,2 | 0,4 | 0,1 | 0,3 | 0,2 | 0,3 | 0,1 |
| | II | X | 4,2b | 3,9a | 4,1b | 4,2b | 4,2b | 4,1b | 4,2bA | 4,1b |
| | | SD | 0,3 | 0,3 | 0,1 | 0,2 | 0,2 | 0,3 | 0,3 | 0,1 |
| soczystość / juiciness | | | | | | | | | | |
| S | I | X | 4,1cB | 4,1cB | 4,0bc | 3,8abB | 4,2cB | 3,7a | 3,9abB | 4,0bcB |
| | | SD | 0,3 | 0,4 | 0,1 | 0,5 | 0,3 | 0,3 | 0,3 | 0,3 |
| | II | X | 3,6 bA | 3,4 aA | 3,9 c | 3,6 bA | 3,7bA | 3,6 b | 3,6 bA | 3,7bA |
| | | SD | 0,2 | 0,4 | 0,2 | 0,4 | 0,3 | 0,3 | 0,1 | 0,2 |
| B | I | X | 4,4bB | 4,3bB | 4,2aB | 4,2a | 4,3bB | 4,1aB | 4,1aB | 4,3bB |

| | | | | | | | | | | |
|----|----|-----|--------|-------|--------|--------|--------|-------|--------|-------|
| b | II | SD | 0,3 | 0,3 | 0,2 | 0,2 | 0,2 | 0,2 | 0,2 | 0,3 |
| | | X | 4,0bcA | 3,8aA | 3,9abA | 3,9ab | 3,9abA | 3,8aA | 3,9abA | 4,1cA |
| | I | SD | 0,3 | 0,3 | 0,2 | 0,3 | 0,2 | 0,2 | 0,2 | 0,2 |
| | | X | 4,3dB | 4,1c | 3,9ab | 4,1cB | 4,1c | 3,8aA | 3,9a | 4,0bc |
| | | SD | 0,2 | 0,3 | 0,1 | 0,2 | 0,2 | 0,1 | 0,1 | 0,2 |
| | | X | 4,0bA | 3,9ab | 3,8a | 3,9abA | 3,9ab | 4,0bB | 4,0b | 3,9ab |
| II | SD | 0,2 | 0,3 | 0,4 | 0,2 | 0,3 | 0,1 | 0,3 | 0,2 | |

Objaśnienia jak w tab. 1a. / Footnotes see Tab. 1a.

W przypadku wszystkich doświadczalnych sortymentów wędlin odnotowano tendencję do obniżania się wartości natężenia zapachu wyrobów, dodatkowo przechowywanych w chłodziarce (3°C).

Warunki w jakich realizowano eksperyment miały nieznaczny wpływ na pożądalność zapachu przetworów (tab. 1b). Z wcześniejszych badań własnych wynika, że pożądalność zapachu szynek przechowywanych w opakowaniach próżniowych, w temp. -18°C przez 2, 4, 6 i 8 miesięcy, w miarę wydłużenia okresu ich magazynowania, zmniejszała się [12].

Okres składowania materiału doświadczalnego w formie peklowanych półproduktów nie wpłynął znacząco na ukształtowanie się pożądalności zapachu szynki. Miał jedynie wpływ na omawiany wyróżnik baleronu i boczku grupy doświadczalnej -3P4. Było to najprawdopodobniej spowodowane tym, że obróbka cieplna i wędzenie były wykonane po przechowywaniu materiału doświadczalnego i w podobnym czasie przed oceną sensoryczną, jak prób kontrolnych.

Przechowywanie doświadczalnych wędlin w chłodziarce przez 7 dób powodowało jedynie nieznaczne obniżenie pożądalności zapachu. Różnice istotne stwierdzono w przypadku szynki i baleronu odpowiednio grup doświadczalnych: K, -3F8, -18F8 (S) i K, -3F8 (B). W przypadku szynki i baleronów odpowiednio grupy doświadczalnej

-18P4 i -3P4 dodatkowe składowanie wyrobów przez 7 dób w warunkach chłodniczych skutkowało wyższą oceną omawianego wyróżnika w porównaniu ze stwierdzoną po I etapie przechowywania. Powyższe obserwacje dotyczyły przetworów, których wędzenie i obróbkę cieplną realizowano po przechowywaniu peklowanych półproduktów. Można przypuszczać, że kształtowanie zapachu nie zostało zahamowane z chwilą zakończenia procesu produkcyjnego tych przetworów, a postępowało nadal podczas ich 7-dniowego przechowywania w warunkach chłodniczych, bowiem po zakończonym wędzeniu w dalszym ciągu ma miejsce przenikanie substancji smakowo-zapachowych dymu do głębszych warstw produktu. Oznacza to, że przechowywanie ww. przetworów przez 7 dób po zakończeniu produkcji (był to środek okresu przydatności do spożycia), korzystnie oddziaływało na ukształtowanie się ich zapachu.

Długotrwałe przechowywanie wędzonek, szczególnie w t.b.k. powodowało zwiększoną ususzkę (przechowalnicze ubytki masy szynki, baleronu i boczku grupy doświadczalnej -3F8 wynosiły odpowiednio 1,25; 1,10; 1,22%). Stąd też w ocenie sensorycznej wyroby te postrzegano jako mało soczyste (tab. 1b). Takie tendencje charakteryzowały wędliny grupy doświadczalnej -3F8. W porównaniu z tymi wyrobami wyżej oceniono soczystość przetworów przechowywanych jako produkty finalne w stanie zamrożonym przez 8 tyg. Słabsze związanie soku mięsnego w tych wyrobach stwarzało wrażenie większej ich soczystości.

W badaniach Szymański i wsp. [14] nieznacznie wyżej, w porównaniu z omawianymi wynikami, oceniono soczystość wędzonek przechowywanych w t.b.k., ale w opakowaniach próżniowych. Podobnie jak w referowanych badaniach, oceniono szynki przechowywane w stanie zamrożonym przez 8 miesięcy, a także polędwice sopockie przechowywane w t.b.k w formie całych batonów, jak również w postaci plasterkowanej, odpowiednio przez 4 i 6 tygodni [8, 11, 12].

Parowanie z powierzchni i/lub wyciek grawitacyjny z przekrojonych wędzonek przechowywanych dodatkowo przez 7 dób w chłodziarce były przyczyną pogorszenia ich soczystości.

Przechowywanie powodowało zmniejszenie kruchości szynek grup doświadczalnych -18F4 i -3F8. W przypadku boczku nie miało ono wpływu jedynie na omawiany wyróżnik wyrobów przechowywanych w formie peklowanych półproduktów w stanie zamrożonym (-18P4, -18P8).

Magazynowanie baleronów w t.b.k. w formie peklowanych półproduktów sprzyjało zwiększeniu ich kruchości (tab. 1c). W przypadku pozostałych doświadczalnych grup baleronów, składowanie powodowało ocenę ich kruchości podobną do wyrobów kontrolnych (-3F4, -18P4, -18P8) albo znacznie niższą (-18F4, -3F8, -18F8). W badaniach polędwic sopockich przechowywanych w t.b.k. i w stanie zamrożonym niżej sklasyfikowana była kruchość wyrobów przechowywanych w temp. -18°C [15].

Siedmiodobowe przechowywanie chłodnicze szynek i baleronów powodowało zmniejszenie kruchości przetworów grup doświadczalnych odpowiednio -3P4, -18P8, -18F8 i -3P4, -3F4, -18P4. Nie miało natomiast praktycznie wpływu na omawiany wyróżnik sensoryczny boczku.

Natężenie smakowitości doświadczalnych wędzonek było najniżej ocenianym wyróżnikiem sensorycznym (tab. 1c). Warunki doświadczenia nie miały większego wpływu na wartość ww. parametru. Składowanie wędzonek w stanie zamrożonym w formie peklowanych półproduktów nie powodowało zmian natężenia smakowitości szynek i baleronów. W przypadku boczku przechowywanych przez 8 tyg. obserwowano nawet istotne zwiększenie wartości ww. wyróżnika w porównaniu z wyrobami składowanymi przez 4 tyg., co mogło być spowodowane nieznacznie

zróżnicowanymi warunkami wędzenia (np. różną gęstością dymu lub nieco innym jego składem chemicznym). W większości prób nie odnotowano wpływu przechowywania chłodniczego na natężenie smakowitości, szczególnie w przypadku przetworów przechowywanych w formie peklowanych półproduktów.

Pomimo obniżonej wartości natężenia smakowitości doświadczalnych przetworów, pożądalność ww. wyróżnika szynek, baleronów, a także boczków szczególnie grupy doświadczalnej -18P8 utrzymywała się na wysokim poziomie, odpowiednio rzędu 4,6 (S); 4,5 (B) i 4,4 pkt (b), (tab. 1c).

Przechowywanie wyrobów finalnych tj. S, B, b w t.b.k. przez 8 tyg. skutkowało pogarszaniem ich pożądalności smakowitości w porównaniu z próbkami kontrolnymi (S,B) i próbkami grupy doświadczalnej -3F4 (B, b).

Tabela 1c

Wyniki analizy sensorycznej wędzonek.
Sensory analysis of processed meat products.

| Wyszczególnienie Specification | | Grupy doświadczalne / Experimental groups | | | | | | | | |
|-----------------------------------|----|---|--------|--------|--------|-------|-------|-------|--------|--------|
| | | K | -3P4 | -3F4 | -18P4 | -18F4 | -3F8 | -18P8 | -18F8 | |
| | | wyróżnik sensoryczny / traits | | | | | | | | |
| | | kruchość / tenderness | | | | | | | | |
| S | I | X | 4,4cB | 4,4cB | 4,3bc | 4,2bc | 3,9a | 4,1ab | 4,4cB | 4,2bcB |
| | | SD | 0,3 | 0,3 | 0,2 | 0,5 | 0,3 | 0,3 | 0,3 | 0,3 |
| | II | X | 4,1bcA | 4,2bcA | 4,3c | 4,2b | 3,9a | 4,0ab | 4,0abA | 3,9aA |
| | | SD | 0,6 | 0,3 | 0,4 | 0,4 | 0,3 | 0,3 | 0,3 | 0,2 |
| B | I | X | 4,5c | 4,7dB | 4,4bcB | 4,5cB | 4,2a | 4,3ab | 4,4bc | 4,3ab |
| | | SD | 0,3 | 0,2 | 0,2 | 0,2 | 0,4 | 0,3 | 0,3 | 0,2 |
| | II | X | 4,5c | 4,4bcA | 4,2aA | 4,3aA | 4,2a | 4,2a | 4,3ab | 4,3ab |
| | | SD | 0,2 | 0,1 | 0,2 | 0,2 | 0,4 | 0,2 | 0,2 | 0,2 |
| b | I | X | 4,3c | 4,0b | 3,8a | 4,2cB | 3,9ab | 4,0b | 4,2c | 3,9ab |
| | | SD | 0,2 | 0,2 | 0,3 | 0,3 | 0,2 | 0,2 | 0,2 | 0,1 |
| | II | X | 4,2b | 3,9a | 4,0a | 4,0aA | 3,9a | 4,0a | 4,1b | 3,9a |
| | | SD | 0,2 | 0,3 | 0,2 | 0,2 | 0,3 | 0,3 | 0,2 | 0,1 |
| | | smakowitość – natężenie / taste – intensity | | | | | | | | |
| S | I | X | 4,2c | 4,2cB | 4,0abB | 4,1bc | 4,1bc | 3,9a | 4,1bcA | 4,1bc |
| | | SD | 0,1 | 0,3 | 0,2 | 0,2 | 0,1 | 0,2 | 0,1 | 0,1 |
| | II | X | 4,2b | 3,9aA | 3,9aA | 4,0a | 4,0a | 4,0a | 4,3bB | 4,2b |
| | | SD | 0,1 | 0,4 | 0,2 | 0,1 | 0,1 | 0,1 | 0,2 | 0,1 |
| B | I | X | 4,2c | 3,9ab | 3,9ab | 3,8a | 4,0b | 4,0b | 3,9ab | 4,0b |
| | | SD | 0,2 | 0,2 | 0,2 | 0,3 | 0,3 | 0,2 | 0,2 | 0,2 |
| | II | X | 4,1cd | 3,8a | 4,0bc | 3,9ab | 3,9ab | 4,0bc | 4,1cd | 4,2d |
| | | SD | 0,1 | 0,2 | 0,4 | 0,2 | 0,3 | 0,1 | 0,3 | 0,1 |
| b | I | X | 4,2c | 3,8a | 4,1bc | 4,0b | 4,2c | 4,0b | 4,4dB | 4,1bc |
| | | SD | 0,2 | 0,2 | 0,2 | 0,3 | 0,1 | 0,2 | 0,3 | 0,3 |
| | II | X | 4,2c | 3,9a | 4,1bc | 4,1bc | 4,2c | 4,1bc | 4,2cA | 4,0a |
| | | SD | 0,2 | 0,3 | 0,4 | 0,1 | 0,3 | 0,1 | 0,3 | 0,3 |

| smakowitość – pożądalność / taste – desirability | | | | | | | | | | |
|--|----|----|-------|-------|-------|-------|------|-------|-------|--------|
| S | I | X | 4,3bB | 4,2ab | 4,2ab | 4,2ab | 4,3b | 4,1aB | 4,6cB | 4,2abB |
| | | SD | 0,2 | 0,4 | 0,1 | 0,1 | 0,1 | 0,3 | 0,2 | 0,3 |
| | II | X | 4,0aA | 4,2bc | 4,2bc | 4,3c | 4,3c | 3,9aA | 4,1bA | 4,1bA |
| | | SD | 0,1 | 0,3 | 0,1 | 0,1 | 0,2 | 0,2 | 0,1 | 0,1 |
| B | I | X | 4,4dc | 4,1ab | 4,2bB | 4,1ab | 4,2b | 4,0a | 4,5cB | 4,3cd |
| | | SD | 0,3 | 0,4 | 0,1 | 0,2 | 0,3 | 0,1 | 0,2 | 0,1 |
| | II | X | 4,3c | 4,0a | 3,9aA | 4,1b | 4,3c | 3,9a | 4,3cA | 4,2bc |
| | | SD | 0,2 | 0,3 | 0,3 | 0,2 | 0,2 | 0,1 | 0,1 | 0,1 |
| b | I | X | 4,2b | 3,8a | 4,1b | 4,0a | 4,2b | 4,0a | 4,4c | 4,2b |
| | | SD | 0,6 | 0,2 | 0,5 | 0,4 | 0,3 | 0,1 | 0,3 | 0,2 |
| | II | X | 4,2b | 3,9a | 4,1b | 4,1a | 4,2b | 4,1a | 4,2b | 4,0a |
| | | SD | 0,4 | 0,3 | 0,4 | 0,1 | 0,3 | 0,1 | 0,2 | 0,2 |

Objaśnienia jak w tab. 1a. / Footnotes see Tab. 1a.

Pożądalność smakowitości doświadczalnych szynek i baleronów charakteryzowały oceny podobne do ocen polędwic sopockich i szynek przechowywanych w t.b.k. [14, 15]. Natomiast boczki oceniono znacznie niżej w porównaniu z wcześniejszymi badaniami własnymi. Przechowywanie przetworów przez 7 dób w chłodziarce powodowało istotne pogorszenie wyróżnika pożądalności smakowitości szynek i baleronów, odpowiednio grup doświadczalnych K, -3F8, -18P8, -18F8 oraz -3F4, -18P8. W przypadku boczków przechowywanie to nie miało wpływu na ocenę omawianego wyróżnika.

Tabela 1d

Wyniki analizy sensorycznej wędzonek.
Sensory analysis of processed meat products.

| Wyszczególnienie Specification | Grupy doświadczalne Experimental groups | | | | | | | | | |
|--|--|------|-------|-------|-------|------|-------|-------|-------|------|
| | K | -3P4 | -3F4 | -18P4 | -18F4 | -3F8 | -18P8 | -18F8 | | |
| | wyróżnik sensoryczny / traits | | | | | | | | | |
| słonność – natężenie / saltiness – intensity | | | | | | | | | | |
| S* | I | X | 3,6a | 3,7a | 4,0b | 3,7a | 3,8a | 4,0bB | 3,9b | 3,9b |
| | | SD | 0,4 | 0,2 | 0,3 | 0,2 | 0,3 | 0,1 | 0,3 | 0,3 |
| | II | X | 3,6a | 3,8b | 3,9b | 3,8b | 3,9b | 3,8bA | 3,8b | 3,9b |
| | | SD | 0,2 | 0,2 | 0,3 | 0,2 | 0,3 | 0,2 | 0,2 | 0,2 |
| B | I | X | 3,8a | 3,9a | 3,7a | 3,7a | 3,8aA | 4,0b | 3,7a | 4,1b |
| | | SD | 0,3 | 0,2 | 0,3 | 0,3 | 0,2 | 0,3 | 0,2 | 0,4 |
| | II | X | 3,6a | 3,8b | 3,9b | 3,8b | 3,9bB | 3,8b | 3,8b | 3,9b |
| | | SD | 0,3 | 0,2 | 0,3 | 0,2 | 0,1 | 0,2 | 0,1 | 0,2 |
| b | I | X | 3,5ab | 3,7b | 3,6ab | 3,3a | 3,7b | 3,7b | 3,6ab | 3,8b |
| | | SD | 0,6 | 0,2 | 0,5 | 0,4 | 0,3 | 0,1 | 0,3 | 0,3 |
| | II | X | 3,5a | 3,7bc | 3,6a | 3,5a | 3,8c | 3,7bc | 3,6a | 3,8c |
| | | SD | 0,4 | 0,3 | 0,4 | 0,1 | 0,3 | 0,1 | 0,2 | 0,2 |

| | | SD | 0,4 | 0,3 | 0,4 | 0,1 | 0,3 | 0,1 | 0,2 | 0,2 |
|--|----|----|-------|-------|-------|-------|------|-------|-------|-------|
| słoność – pożądalność / saltiness – desirability | | | | | | | | | | |
| S | I | X | 4,2cB | 4,1bc | 3,8aA | 4,0bc | 3,9a | 3,8aA | 4,0bc | 4,0bc |
| | | SD | 0,3 | 0,3 | 0,2 | 0,2 | 0,1 | 0,3 | 0,2 | 0,2 |
| | II | X | 3,9aA | 3,9a | 4,0aB | 3,9a | 3,9a | 4,0aB | 4,1b | 4,1b |
| | | SD | 0,2 | 0,3 | 0,1 | 0,2 | 0,2 | 0,2 | 0,1 | 0,2 |
| B | I | X | 4,3c | 4,0bB | 3,9a | 4,0b | 3,8a | 3,9aA | 4,1b | 4,0bA |
| | | SD | 0,2 | 0,4 | 0,1 | 0,2 | 0,1 | 0,3 | 0,2 | 0,1 |
| | II | X | 4,3c | 3,8aA | 3,9a | 3,9a | 3,8a | 4,1bB | 4,2bc | 4,1bB |
| | | SD | 0,3 | 0,2 | 0,1 | 0,2 | 0,1 | 0,1 | 0,2 | 0,1 |
| b | I | X | 4,1c | 3,9b | 3,8a | 3,7a | 3,7a | 3,9bA | 3,9b | 4,0bc |
| | | SD | 0,3 | 0,2 | 0,3 | 0,4 | 0,2 | 0,2 | 0,3 | 0,2 |
| | II | X | 4,0bc | 3,8a | 3,9b | 3,7a | 3,7a | 4,1cB | 4,0bc | 4,0bc |
| | | SD | 0,2 | 0,1 | 0,3 | 0,2 | 0,2 | 0,1 | 0,2 | 0,1 |

Objaśnienia jak w tab. 1a. / Footnotes see Tab. 1a.

Przetwory (S, B, b) przechowywane w stanie zamrożonym, zarówno w formie peklowanych półproduktów jak i finalnych wyrobów, charakteryzowały się stopniowo zwiększającymi się wartościami natężenia słoności (tab. 1d). Powyższe zmiany wyrobów mogły być konsekwencją zmniejszającej się zdolności utrzymywania wody i/lub odwodnienia (ususzki) i tym samym zwiększonej percepcji smakowej wyróżnika słoności. Podczas przechowywania chłodniczego natężenie słoności nie ulegało istotnym zmianom.

Sensoryczne odczucie słoności w największym stopniu było akceptowane w przetworach kontrolnych (tab. 1d). Na podobnym poziomie, jak w próbach odniesienia, sklasyfikowano słoność (pożądalność) szynki i boczku grup doświadczalnych odpowiednio -3P4, -18P4, -18P8, -18F8 (S) i -18F8 (b).

Dodatkowe chłodnicze przechowywanie przetworów nie miało wpływu na natężenie słoności. Niewielki jego korzystny wpływ odnotowano w przypadku pożądalności słoności, dotyczył on przetworów grup doświadczalnych -3F8 (S, B, b), -3F4 (S), -18F8 (B).

Doświadczalne przetwory (S, B, b) charakteryzowały znacznie niższe noty uwzględnionych w badaniach wyróżników oceny sensorycznej, aniżeli identycznie przechowywane w t.b.k. w opakowaniach próżniowych polędwice sopoćkie oraz szynki, magazynowane w stanie zamrożonym [11, 12, 14, 15].

Wnioski

1. Zastosowane czynniki doświadczalne powodowały obniżenie wartości wyglądu zewnętrznego szynki (-3F8, -18P4, -18F8), baleronu (-3P4, -3F4, -18P4, -3F8) i boczku (-3F4, -18P4, -3F8).

2. Przyjęte warunki przechowywania nie miały wpływu na pożądalność barwy szynki i baleronu, powodowały natomiast obniżenie wartości omawianego wyróżnika sensorycznego boczku.
3. Zmniejszenie pożądalności zapachu charakteryzowało baleron i boczek przechowywane w formie peklowanych półproduktów w temp. -3°C przez 4 tyg. (-3P4) a także szynkę, baleron i boczek przechowywane w ww. temperaturze przez 8 tyg. (-3P8).
4. Przechowalnicze pogorszenie soczystości charakteryzowało wszystkie warianty eksperymentalne boczku oraz szynkę (-18P4, -18P8, -18F8) i baleron (-3F4, -18P4, -18F8, -18P8).
5. Odnotowano niższą, w porównaniu z próbą kontrolną, ocenę kruchości doświadczalnych przetworów przechowywanych w formie produktów finalnych w temp. -3°C i -18°C odpowiednio przez 8 i 4 tyg. oraz baleronu (-18F8) i boczku (-3P4, -3F4, -18F8).
6. Przechowywanie przetworów w doświadczalnych warunkach powodowało jedynie niewielkie pogorszenie smakowitości szynki (-3F8) oraz znacznie większe obniżenie wartości omawianego wyróżnika baleronu (-3P4, -3F4, -18P4, -18F4, -3F8) i boczku (-3P4, -18P4, -3F8).
7. Czynniki doświadczalne nie miały wpływu na natężenie barwy szynki, niewielkie ich oddziaływanie notowano na intensywność zapachu i smaku. W największym jednak stopniu decydowały one o intensywności barwy i smaku baleronu oraz boczku.
8. Zmiana wyglądu zewnętrznego podczas dodatkowego, 7-dobowego przechowywania w warunkach chłodniczych, charakteryzowała baleron i boczek grupy doświadczalnej -18F8, boczek kontrolny (K), a także wszystkie eksperymentalne przetwory grup -3P4 i -18P8.
9. Dodatkowe, 7-dobowe chłodnicze przechowywanie przetworów (S, B, b), nie powodowało zmniejszenia pożądalności ich barwy, przyczyniło się natomiast do istotnego pogorszenia soczystości, a także pożądalności smakowitości szynki (K, -3F8, -18P8, -18F8) i baleronu (-3F4, -18P8).
10. Pomimo, że zastosowane warunki przechowywania doświadczalnych przetworów powodowały pogorszenie jakości większości wyróżników sensorycznych, ich ocena utrzymywała się najczęściej na poziomie dobrym lub powyżej dobrego.

Literatura

- [1] Anon.: Wpływ chłodzenia na mikroorganizmy. Mięso i Wędliny, 1995, **1**, 24-30.
- [2] Baryłko - Pikielna N.: Zarys analizy sensorycznej. WNT, Warszawa 1975.
- [3] Grohs B.-M., Kliegel N., Kunz B.: Bakterien wachsen langsamer. Fleischwirts., 2000, **9**, 61-63.

- [4] Gill C.O.: Extending the storage life of raw chilled meats. *Meat Sci.*, 1996, **43**, S, 99-105.
- [5] Gołowkin N. A., Masłowa G.W., Skomorowska I.R.: *Konsierwirowanie produktów zwiotnowo proischozhdienija pri subkrioskopiczeskich tiempieraturach*. Agropromizdat, Moskwa 1987.
- [6] Leistner L.: Food preservation by combined methods. *Food Res. Int.*, 1992, **25**, 151-153.
- [7] Majczyna D., Białosiewicz D.: Przeżywalność drobnoustrojów w niskich temperaturach. *Chłodnictwo*, 2001, XXXVI, **5**, 45-48.
- [8] Nowara M.: Ocena trwałości w temperaturze bliskiej krioskopowej wędzonek powierzchniowo traktowanych substancjami bakteriostatycznymi. Badania niepublikowane. Katedra Technologii Surowców Zwierzęcych, AR, Wrocław 2002.
- [9] Pikul J.: Pakowanie i przechowywanie schłodzonego mięsa w modyfikowanej atmosferze. *Chłodnictwo*, 2001, XXXVI, **10**, 30-36.
- [10] PN – ISO 6658: 1998. Analiza sensoryczna. Metodologia. Wytyczne ogólne.
- [11] Symura J.: Trwałość wędlin plasterkowanych przechowywanych w temperaturze bliskiej krioskopowej. Badania niepublikowane. Katedra Technologii Surowców Zwierzęcych, AR, Wrocław 2002.
- [12] Szymańko T.: Wpływ przechowywania w stanie zamrożonym szynki wieprzowych niepuszkowanych na wybrane parametry fizykochemiczne, obraz histologiczny oraz poziom lotnych N-nitrozoamin. *Zesz. Nauk. AR we Wrocławiu, Technologia Żywności*, 1984, **III**, 23-43.
- [13] Szymańko T., Duda Z., Kajdan L., Kubis B.: Storage of selected sort of processed meat products at cryoscopic temperature – an attempt at energy conservation. Changes in proteins, amino acids balance and in vitro digestibility of cured smoked raw pork loin. *Acta Aliment. Pol.* 1988, **2**, 145-156.
- [14] Szymańko T., Duda Z., Ogonowska D.: The quality of uncanned ham as influenced by long-term storage at cryoscopic temperature. International Institute of Refrigeration, Bristol Commission C2, 1986, pp. 329-337.
- [15] Szymańko T.: Ocena efektywności przechowywania wędzonek w temperaturze bliskiej krioskopowej oraz w stanie zamrożonym (badania modelowe). *Zesz. Nauk. AR we Wrocławiu Rozprawy* 1998, **334** CLIV, 1-124.

Praca finansowana ze środków KBN w latach 2001-2003.

THE IMPACT OF STORING PROCESSED MEAT PRODUCTS AT NEAR CRYOSCOPIC TEMPERATURE AND IN A FROZEN STATE ON THEIR SENSORY PROPERTIES

S u m m a r y

The objective of this investigation was to evaluate the impact of the storage conditions of cured, smoked and processed meat products wrapped in a non-barrier wrapping (parchment) on their sensory properties. Meat products (ham, collar, and streaky bacon) were stored as cured semi-products at a near cryoscopic temperature (-3°C) during a period of 4 weeks and at a temperature of -18°C during 4 and 8 weeks. The experimental material was also stored, as a final product, under the above mentioned conditions. After the storage, the semi-products were smoked and scalded. The experimental products were also evaluated after an additional storing period of 7 days in a refrigerator (3°C). It was stated that storing processed meat products under the experimental conditions did not significantly deteriorate their sensory qualities.

Key words: cured smoked meat products, storage, sensory evaluation. ☒

HALINA MAKAŁA, MICHAŁ OLKIEWICZ

**ZASADY OPRACOWYWANIA NOWYCH PRODUKTÓW
Z UWZGLĘDNIENIEM OCZEKIWAŃ KONSUMENTÓW,
NA PRZYKŁADZIE MIĘSA I JEGO PRZETWORÓW**

Streszczenie

Omówiono pojęcia związane z projektowaniem nowych produktów spożywczych i wprowadzeniem ich na rynek oraz zasady opracowywania nowych produktów (FPD). Scharakteryzowano „cykl życia” produktu oraz opisano podstawowe metody strategii marketingowych. Przeanalizowano rynek mięsa i przetworów mięsnych w Polsce, wskazując na specyfikę tego działu gospodarki. Przedstawiono przykładowe zachowania konsumentów związane z nowymi wyrobami i trendami żywieniowymi. Wskazano, że w projektowaniu nowych wyrobów mięsnych należy uwzględniać cechy, które konsumenci postrzegają jako element dobrej jakości produktu. Takie cechy, to najczęściej: pożądane walory smakowo-zapachowe, brak substancji dodatkowych, jak również zanieczyszczeń chemicznych i mikrobiologicznych, duża wartość odżywcza i zróżnicowana wartość energetyczna. Z innych elementów wymieniane są: funkcjonalność, łatwość przygotowania do spożycia, przydatność do mrożenia i krótkotrwałego przechowywania chłodniczego. Konsumenci preferują także produkty krajowe, wytwarzane metodami ekologicznymi lub tradycyjnymi. Uwzględnienie wymienionych tendencji jest elementem nieodzownym w kreowaniu nowych produktów mięsnych.

Słowa kluczowe: nowy produkt, zasady opracowywania, konsument, przetwory mięsne.

Wprowadzenie

Zmieniająca się struktura ludności, pojawiające się coraz powszechniej nowe oczekiwania konsumentów oraz związane z tym modele żywieniowe powodują intensywny rozwój nauki o żywności [1, 3, 7, 9, 15].

Już na początku lat 90. XX w. Daun [7] przedstawił przykładowe trendy rozwojowe produkcji żywności. Obejmują one:

- opracowywanie żywności zbilansowanej żywieniowo,

- produkcję żywności o pożądanym przez konsumenta cechach: „świeża”, „naturalna”, „zdrowa”,
 - ilościowe ujmowanie jakości,
 - opracowywanie produktów aktywnych fizjologicznie, oddziałujących na obniżenie zawartości cholesterolu oraz zapobieganie chorobom nowotworowym, osteoporozie, hiperaktywności, alergiom i starzeniu się,
 - wprowadzanie nowych metod przetwarzania np. ekstruzji, radiacji, metod biologicznych, procesów membranowych, wysokich ciśnień,
 - wprowadzenie produkcji zintegrowanej i kierowanej komputerowo,
 - rozwój opakowań przyjaznych dla środowiska,
 - wprowadzanie tzw. alternatywnych surowców,
 - nowe sposoby utylizacji odpadów i odzyskiwanie z nich wielu cennych substancji.
- Kierunki te coraz powszechniej są wdrażane w przemysłowej produkcji żywności.

Opracowywanie nowych produktów żywnościowych (FPD – Food Product Development)

Definicję nowego produktu żywnościowego (novel food) zawarto w Rozporządzeniu EC nr 258/97 Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 27 stycznia 1997 r. Rozporządzenie dotyczy wprowadzania na rynek Wspólnoty produktów spożywczych i składników żywności, które dotychczas nie były w znacznym stopniu wykorzystywane na terenie Wspólnoty w żywieniu ludzi, a które zaliczają się do następujących kategorii: a) zawierające lub składające się z genetycznie zmodyfikowanych organizmów w rozumieniu Dyrektywy 90/220/EWG; b) wyprodukowane na bazie genetycznie zmodyfikowanych organizmów, choć ich nie zawierają; c) o nowej lub celowo zmodyfikowanej podstawowej strukturze molekularnej, d) składające się z/lub wyekstrahowane z mikroorganizmów, grzybów lub wodorostów; e) składające się z/lub wyekstrahowane z roślin i składników żywności pochodzących od zwierząt, za wyjątkiem produktów spożywczych i składników żywności uzyskanych drogą tradycyjnych metod wytwórczo-hodowlanych, o których już wiadomo, że są bezpieczne dla zdrowia f) produkty spożywcze i składniki żywności, które zostały poddane procesowi wytwórczemu obecnie niebędącemu w użyciu, w efekcie którego powstają istotne zmiany w składzie lub strukturze żywności lub jej składników, co z kolei ma wpływ na ich wartość odżywczą, metabolizm i poziom niepożądanych substancji (art. 1, p. 2).

Wyżej wymienione produkty i składniki żywności, objęte zakresem rozporządzenia, nie mogą: stanowić zagrożenia dla konsumenta, wprowadzać go w błąd oraz różnić się w takim stopniu od produktów spożywczych i składników żywności, które mają zastępować, że ich zwykłe spożycie może być niekorzystne dla

odżywiania konsumenta (art. 3, p. 1). Wprowadzenie ich na rynek UE wymaga wdrożenia odpowiednich procedur (art. 4, 6, 7 i 8 ww. rozporządzenia).

Daun [7] definiuje proces FPD jako skoordynowaną działalność wielu specjalistów z dziedziny biologii, chemii, fizyki, inżynierii i technologii, jak też ekonomii, marketingu oraz nauk społecznych mającą na celu poprawę istniejących lub opracowanie nowych procesów i produktów oraz wprowadzenia ich na rynek.

Na potrzeby realizacji procesów FPD, jako nowy można określić produkt:

- całkowicie nowy – nie występujący dotychczas na rynku,
- produkt charakteryzujący się albo nową technologią albo nowymi surowcami lub też jednym i drugim [8].

Wprowadzenie całkowicie nowego produktu żywnościowego na rynek jest niezmiernie trudne i zdarza się rzadko. Większość nowych produktów powstaje w wyniku kombinacji wybranych zabiegów technologicznych i modyfikacji recepturowych. Najczęściej nowy produkt żywnościowy jest efektem rozwoju istniejącej linii produktów, np. przez wprowadzenie nowej gamy aromatów, smaków, nadanie nowej tekstury, zastosowanie nowych opakowań (nowej szaty graficznej, zmiany wielkości porcji w opakowaniu), zmianie zawartości wybranych składników lub dodatków (np. produkując wyroby o niższej zawartości tłuszczu, cukru). Często też przeprowadza się modyfikację istniejących produktów, nadając im formę żywności wygodnej, przez:

- wprowadzenie do nich nowych składników (np. zamienników tłuszczu, błonnika pokarmowego, witamin),
- oferowanie nowych sposobów przygotowania lub serwowania produktu (np. wprowadzenie wstępnej obróbki cieplnej, przystosowanie produktu do odgrzewania w kuchence mikrofalowej).

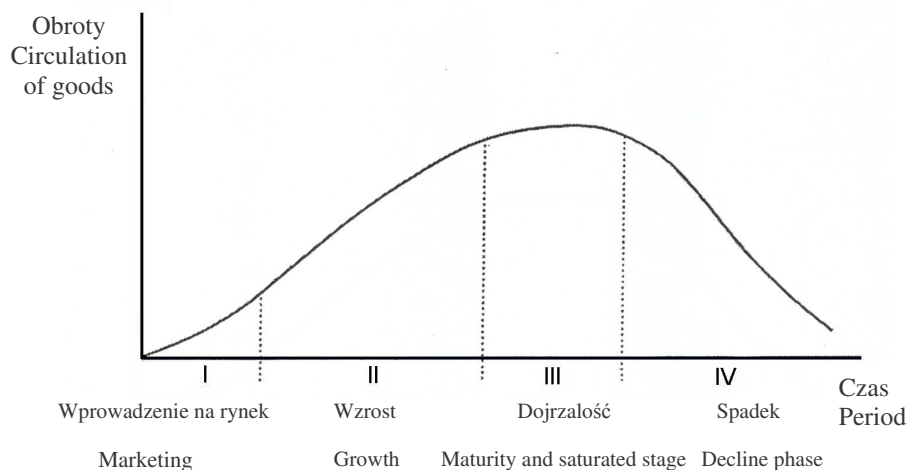
Opracowywanie nowych produktów, wprowadzanie ich na rynek, a następnie ich dalsze doskonalenie w wyniku obserwowanych zmian wymagań rynkowych i preferencji konsumenckich staje się koniecznością, szczególnie w sytuacji znacznej konkurencji na rynku. Do czynników wpływających na aktywność przedsiębiorstw produkcyjnych w zakresie realizacji procesów FPD należą:

- 1) potrzeby własne firmy skierowane na jej rozwój, w tym: wzrost sprzedaży, większy zysk, zmniejszenie ryzyka strat, zwalczanie konkurencji podobnych podmiotów działających na rynku;
- 2) zachodzące zmiany społeczne, takie jak: przekształcanie się rodziny, zmienność gustów, migracja ludności, przemiany ekonomiczne, zmiany charakteru pracy, stopień wykształcenia, wzrost aktywnego wypoczynku;
- 3) postęp w dziedzinie nauki i technologii obejmujący rozwój nauk podstawowych, nowe wynalazki techniczne oraz procesy i urządzenia, nowe surowce, innowacje w innych przemysłach [17].

Każdy produkt ma swój „cykl życia”, który można opisać charakterystyczną krzywą dzwonową przebiegającą w czasie [16]. Składa się ona z faz następujących kolejno po sobie (rys.1):

- faza wstępna I – wprowadzenie produktu na rynek,
- faza silnego wzrostu II- charakteryzuje się gwałtownym przyrostem sprzedaży,
- faza dojrzałości III – oznacza początkowo malejący wzrost sprzedaży, a później nawet spadek sprzedaży,
- faza spadku IV – charakteryzuje się silnym spadkiem sprzedaży i gwałtownym spadkiem zysków.

Faza wstępna I charakteryzuje się dużymi wydatkami marketingowymi (mając na celu przede wszystkim zdobycie uwagi konsumenta), wysoką ceną wyrobu, a niską sprzedażą i różnorodną dystrybucją. W II fazie, określanej jako faza wzrostu, obserwuje się zazwyczaj szybki wzrost sprzedaży, zysk osiąga szczytowy poziom, wydatki marketingowe są na wysokim poziomie, produkt jest ulepszony. W fazie III – dojrzałości następuje wolny wzrost sprzedaży, obserwuje się spadek zysku i wydatków marketingowych, cena wyrobu jest najniższa. Faza IV – spadku cechuje się spadkiem sprzedaży, niskim zyskiem i wydatkami marketingowymi, wzrastającą ceną. Po fazie IV produkt powinien być wycofany z rynku, gdyż zaczyna przynosić straty. Na jego miejsce powinien być wprowadzony nowy produkt [8].



Rys. 1. Hipotetyczny cykl życia produktu (cyt. Za H. Mrukiem [15]).

Fig. 1. Hypothetical life cycle of product (cit. from H. Mruk [15]).

Rozwój i wprowadzenie nowych produktów na rynek stało się nową dziedziną działalności, wymagającą profesjonalnej realizacji, aby zwiększyć możliwość zapewnienia sukcesu. Wg Tybora [24], aspekty profesjonalnego podejścia do FPD to:

- rozpoznanie potrzeb rynku,
- ocena własnych możliwości,
- ocena ryzyka – z każdą możliwością związane jest ryzyko, którego rezultatem może być finansowa strata,
- ustalenie kierunku działań – ryzyko może być minimalizowane przez ustalenie określonych założeń,
- planowanie,
- działanie,
- przegląd (recenzje),
- podejmowanie decyzji.

Istnieje kilka różnych możliwości rozpoczynania FPD. Jednak wszystkie punkty startowe zawierają w sobie potrzebę identyfikacji celu (idei) i zbieranie informacji rynkowych [22].

Metody strategii marketingowych

Duże firmy realizują bardzo wyspecjalizowany proces FPD, z zaangażowaniem wszystkich niezbędnych do tego działów (np. marketingu, rozwoju, technologii, produkcji, zaopatrzenia, kontroli jakości, ekonomicznego) lub powołują do prac nad nowymi produktami specjalne komórki, w których zatrudnieni są specjaliści z wielu dziedzin. Wymaga to jednak zaangażowania ogromnych środków finansowych.

Wyróżnia się kilka głównych strategii opracowywania i rozwoju nowych produktów [25].

Strategia potrzeb („the need strategy”) – jest często stosowana jako punkt startowy bazujący na potrzebach konsumentów i rynku. Strategię tę dobrze opisują pytania:

1. Czy ujawniły się takie potrzeby konsumentów, których nie zaspokajają produkty aktualnie znajdujące się na rynku?
2. Czy obserwuje się niezadowolenie lub niedosyt konsumentów z istniejących produktów?

Strategia pozycji na rynku („the marketing position strategy”) – jest podobna do strategii potrzeb. Usytuowanie firmy na rynku kierowane jest na zdolność bycia atrakcyjnym dla konsumentów, wykorzystując: znaną nazwę markową, reklamę lub opakowanie. Ta technika marketingowa jest stosowana jeśli nowy produkt jest podobny lub niewiele różniący się od występujących już na rynku. Ryzyko takich działań jest małe, dopóki przyrost wydatków na każdy produkt jest relatywnie niski, a włożony wysiłek jest niewielki. Natomiast wadą takiego podejścia do rozwoju nowych produktów jest zdolność konkurentów do szybkiego wejścia na rynek z podobnymi produktami i odzyskania straconego miejsca na rynku [25].

Strategia kominowa („the funnel strategy”) wymaga organizowania tzw. „burzy mózgów” (brainstorming) specjalistów z wielu dziedzin i wymyślenia wielu idei nowych produktów. Podstawą tej strategii jest przeświadczenie, że tylko kilka dobrych pomysłów przechodzi fazę komercjalizacji i osiąga sukces. Współczynnik sukcesu oscyluje pomiędzy 2–10%, tak że tylko 1 produkt na 50 startujących może znaleźć swoje miejsce na rynku.

System oceny odniesionego sukcesu lub poniesionej porażki obejmuje mechanizm klucza decyzyjnego, polegający na tym, że nietrafione pomysły są eliminowane. Ocena jest dokonywana, kiedy wstępny projekt trafia na rynek w czasie procesu tworzenia lub w czasie testów marketingowych. Strategia kominowa wymaga, aby za jednym pomysłem przechodzącym przez system, podążał drugi. Jednak ciągły dopływ nowych pomysłów jest trudny do podtrzymania w dłuższym przedziale czasu [25].

Strategia wielkiej bomby („the big bomb strategy”) – ta technika praktykowana jest tylko przez kilka wielkich korporacji, gdyż wymaga ogromnych nakładów finansowych. Strategia ta wymaga pięciu podstawowych etapów (kroków):

1. Założenie jako celu wielkiej grupy produktów o znanej marce.
2. Rozwój najlepszego produktu spośród intensywnie badanych.
3. Testowanie podobnych wersji produktów głównych konkurentów.
4. Wielokrotne testowanie rynku i prowadzenie badań alternatywnych.
5. Przekazywanie dużych ilości produktów na promocje.

Opracowywanie nowych produktów (FPD), jak wyżej opisano, uwzględnia obiektywne podstawy przy wykorzystaniu najnowszych zdobyczy nauki i techniki. Istnieje jednak jeden bardzo ważny element tego procesu niedający się zobiektywizować. Jest to konsument, którego subiektywne odczucia, upodobania i preferencje wpływają na opinie o nowo opracowywanych produktach [7].

Należy podkreślić, że konsumenci wraz ze swoimi zachowaniami na rynku i reakcjami na nowości są najważniejszym czynnikiem udanego wprowadzania nowych produktów na rynek. Konsument spełniający rolę „busoli” i ocena rynku są najlepszym źródłem pomysłów do tworzenia nowych produktów [22]. Każdy, kto realizuje procesy FPD musi już od wczesnych faz opracowywania weryfikować swoje pomysły, poddając je pod osąd konsumentów. Musi znać zmieniające się potrzeby konsumentów, gdyż stopień ich zaspokojenia na ogół decyduje o tym czy produkt odniesie sukces rynkowy, a firma sukces finansowy. Dlatego tak ważną rolę odgrywają wszelkiego rodzaju badania rynkowe i zbieranie opinii przyszłych użytkowników na temat nowych produktów. Integralną częścią procesu opracowywania nowych produktów żywnościowych musi być analiza sensoryczna wykonywana na dwóch poziomach:

- panele laboratoryjne – do oznaczania typu i stężenia użytych składników oraz oceny cech sensorycznych i trwałości produktu,
- panele konsumentów – do oceny preferencji i końcowej akceptacji oraz oceny ostatecznej handlowej postaci nowego produktu [22].

Szczególną uwagę należy zwrócić na współpracę technologów z przedstawicielami marketingu. Często ta współpraca nie jest łatwa i nie układa się najlepiej z powodu niezrozumienia przez technologów postulatów pracowników działu marketingu. Technolodzy muszą zdać sobie sprawę z faktu, że wymagania stawiane przez specjalistów od marketingu nie są ich wymysłem, a – wprost przeciwnie – stanowią konsekwencje badań rynkowych i reprezentują preferencje, postulaty i uwagi konsumentów. Dlatego też wymagania te muszą być uwzględniane przy opracowywaniu nowych produktów, gdyż produkty nieakceptowane przez konsumentów nie utrzymują się na rynku [17, 20, 26].

Do podejmowania trafnych decyzji rynkowych niezbędne jest dysponowanie dokładną i wiarygodną informacją. Wymagana jest do tego znajomość potrzeb klientów, ocena oferowanych produktów oraz opinia użytkowników o walorach dóbr i satysfakcji konsumentów.

Na kształtowanie kierunków wytwarzania produktów mają wpływ w dużym stopniu oczekiwania konsumentów. Wg Surmackiej – Szcześniak [22] nowe produkty powinny:

- zaspokoić potrzeby konsumenta,
- dać satysfakcję sensoryczną,
- mieć cenę, którą konsument jest skłonny zapłacić,
- mieć odpowiedni stosunek ceny do wartości.

Opracowywanie nowych produktów w dużych firmach przebiega wieloetapowo. Surmacka-Szcześniak [22] wyodrębniła następujące etapy FPD: faza koncepcji, etap wstępny, opracowania w skali laboratoryjnej lub półtechnicznej, etap opracowania zaawansowanego, etap wdrożenia do produkcji. Tybor [23], specjalista od projektowania i rozwoju produktów żywnościowych, proponuje osiem kroków FPD, a mianowicie: powstanie idei produktu (pomysł na nowy produkt), rozwój wymyślonej idei (koncepcji), powstanie i rozwój prototypu produktu, wymyślenie opakowania i rozwój procesu produkcyjnego (z jednoczesnym wejściem w fazę rozwoju produktu), faza przed komercjalizacją, testowanie produktu na rynku, rozpoczęcie produkcji na skalę przemysłową oraz komercjalizacja produktu. W realizację procesu FPD zaangażowane są wszystkie działy firmy (marketing, dział ekonomiczny, dział rozwoju, dział produkcji, dział techniczny, dział zaopatrzenia, kontrola jakości oraz dział sprzedaży), do czego potrzebne są ogromne środki finansowe (rzędu 50 – 100 mln USD). Kierownictwo firmy, sprawujące ogólny nadzór nad procesem FPD w wyznaczonych punktach kontrolnych, na podstawie oceny stanu zaawansowania

procesu rozwoju produktu podejmuje decyzję o wstrzymaniu lub kontynuowaniu projektu i uruchomienia dalszych środków finansowych [25].

Firmy mniejsze – pozbawione zaplecza badawczego – często korzystają z usług firm konsultingowych, zlecając im odpowiednie badania i opracowanie nowego produktu w części lub całości. Natomiast firmy małe, o niewielkim kapitale i nielicznym personelu, działają w znacznym stopniu intuicyjnie. Ujawnia się tutaj bardzo ważna rola właściciela lub managera. Jego zasób wiedzy, znajomość rynku i wymagań konsumentów, umiejętność wykorzystania nisz rynkowych itp. pomagają w kreowaniu nowych produktów i wprowadzeniu ich z sukcesem na rynek [17].

Etapy procesu rozwoju nowych produktów opisywane są i prezentowane w różnorodny sposób. Pasternak [20] analizował fazy rozwoju produktu opisane przez wybranych autorów. Stwierdził różnice w przypisaniu tych samych elementów procesu do różnych faz oraz różnice wynikające z przeznaczenia produktu. Na ogół zakłada się, że fazy procesu następują po sobie kolejno, jedna po drugiej sekwencyjnie. W praktyce często niektóre czynności związane z realizacją poszczególnych faz pokrywają się. Wiele przedsiębiorstw preferuje podejście, w którym rozwój produktu dokonywany jest równocześnie we wszystkich stadiach lub fazach (tzw. symultaniczny rozwój produktu). Praktyczny wybór podejścia sekwencyjnego czy symultanicznego będzie zależał od warunków realizacji konkretnego projektu. Szybsze wprowadzenie na rynek nowego produktu niż to zrobią konkurenci i szybsza reakcja na zapotrzebowanie rynku daje istotną przewagę i tym samym większe zyski. Rozwój produktu jest najczęściej programem realizowanym w strukturach poprzecznych, które wspólnie przyczyniają się do skutecznej realizacji zadań [19].

Nowy proces technologiczny często zmienia cechy jakościowe wytwarzanych produktów, wymuszając tym samym jego innowacje. Nowy lub ulepszony produkt jednej firmy może stanowić wstęp do innowacji procesu w firmach wykorzystujących ten produkt jako surowiec lub dodatek. Zdaniem Czupiała [6], innowacje produktowe to nowe wyroby o różnym nasileniu cech nowości. Zaliczane są do nich między innymi:

- niewielkie zmiany w wytwarzanym produkcie, sprzedawanym na dotychczasowym rynku,
- wprowadzenie wytwarzanego od dawna produktu na nowy rynek,
- wprowadzenie na nowy rynek produktu podobnego do produktu konkurentów, lecz nowego dla producenta,
- duże zmiany i usprawnienia w produktach sprzedawanych przez producenta na różnych rynkach,
- wprowadzenie na rynek produktu całkowicie odmiennego od sprzedawanych dotychczas, ale znanego na rynkach zagranicznych,

- wprowadzenie produktu całkowicie nowego, nieznanego na rynku krajowym ani na zagranicznych.

Innowacje procesowe są często w praktyce sprzężone z wprowadzeniem nowych wyrobów.

Jakość surowca połączona z właściwymi kanonami przetwórstwa pozwala na osiągnięcie rezultatu w postaci żywności bezpiecznej i wysokiej jakości. W procesie budowy zaufania do produktów spożywczych, poprzez gwarantowanie bezpieczeństwa produktu przez producenta, powodzenie produktu na rynku zależy od jego jakości. Musi ona również podlegać nadzorowi i kontroli w łańcuchu żywnościowym, ponieważ końcowy produkt w obrocie towarowym jest emanacją zarówno dobrej praktyki rolniczej, jak i dobrych praktyk przetwórstwa, przechowywania i dystrybucji. Jakość całkowita dla klienta może być określona angielskim akronimem QVALITY, obejmując:

- **Quality** – jakość produktu,
- **Volume** – podaż, różnorodność produktów,
- **Administrative system** – system administracyjny,
- **Location** – dostępność sieci handlowej,
- **Interactions** – przywiązanie klienta do marki, lojalność,
- **Timing** – koordynacja podaży i popytu w czasie,
- **Yield** – stosunek kosztu do pożytku, cena.

Udział poszczególnych czynników w decyzji o kupnie, którą podejmuje klient, zależy od rodzaju towaru. W grupie artykułów spożywczych i pochodzenia rolniczego niewątpliwie ważne są jakość, własności sensoryczne, dyspozycyjność, łatwość nabycia, dostępność, przywiązanie do marki, cena. Istotna jest też sezonowość zakupu związana z porą roku, świętami itp.

Nowy produkt a przemysł mięsny

W celu opracowania strategii tworzenia nowych produktów mięsnych niezbędne jest poznanie rynku mięsa i przetworów oraz zachowań i oczekiwań konsumentów w stosunku do produktów mięsnych [13, 14, 15, 16, 17, 18, 23].

Rynek mięsny w Polsce należy do najważniejszych segmentów sektora żywnościowego o dużej dynamice rozwoju. Ulega on ciągłym zmianom i przeobrażeniom, związanym z procesami koncentracji w przemyśle mięsnym oraz powstawaniem nowych podmiotów gospodarczych. Jest to rynek specyficzny, co wynika z takich czynników, jak:

- nietrwałość mięsa i wyrobów mięsnych,
- niska elastyczność ich podaży,
- nierównowaga rynkowa (w przypadku wielu sortymentów) [13].

Na przykładzie krajów Unii Europejskiej zaobserwowano, że coraz częściej zainteresowanie konsumentów kieruje się na produkty luksusowe, wyższego wyboru. Przy wyborze produktów mięsnych znaczenia nabierają wartości emocjonalne, w tym potrzeba szukania przyjemności (smak, zapach, tekstura). Strategia polegająca na wprowadzaniu na rynek nowych rodzajów produktów, gdzie ujawnia się popyt konsumentów, określana jest jako dywersyfikacja wsparta tendencjami i postępowaniem technologicznym w fazie przetwórstwa [13].

W Polsce, według danych prezentowanych przez GUS [21], w ostatnich latach utrzymywała się spadkowa tendencja produkcji żywca. Na rynku wołowiny, w następstwie kryzysu, przewiduje się dalszy spadek spożycia mięsa wołowego z 7,0 do 5,5, kg/osobę/rok (o 21%). Konsumpcja wieprzowiny, wg danych szacunkowych, zmalała z 38,7 do 37,5 kg/osobę/rok (o 3,1%). Jak przewidują prognozy, spadki te będą rekompensowane przez około 10% wzrost spożycia drobiu. W 2001 r. przemysłowa produkcja wędlin była o 5,5% mniejsza niż w 2000 r., w tym wyprodukowano o około 10% mniej szynki i łopatek i aż o 59% mniej konserw mięsnych i podrobowych ze zwierząt rzeźnych niż w roku poprzednim [23]. Zmniejszenie popytu w 2001 r. na całą żywność, w tym na mięso i przetwory mięsne, związane było z:

- nasileniem się niekorzystnej sytuacji dochodowej ludności,
- wzrostem cen usług bytowych, istotnie obciążających budżety rodzinne,
- osłabieniem dynamiki gospodarczej, a w związku z tym spadkiem zatrudnienia w sektorze przedsiębiorstw i wzrostem liczby bezrobotnych.

Z analizy danych budżetów rodzinnych wynika, że realne wydatki gospodarstw domowych na mięso i jego przetwory zmniejszyły się w roku 2002 o około 5%, a spożycie ilościowe tych produktów zmniejszyło się o 1,2%. Następstwem tego było ograniczenie zakupu artykułów droższych na rzecz tańszych. Nie uległa zmianie ilościowa konsumpcja mięsa surowego, natomiast ograniczeniu uległa konsumpcja przetworów mięsnych. Wzrósł popyt na wędliny drobiowe i podrobowe, istotne ograniczenie obserwowano w popycie na popularne kielbasy. Przewiduje się, że w roku 2004 konsumpcja mięsa i podrobów ogółem kształtować się będzie na poziomie ok. 65 kg na 1 mieszkańca, tj. około 2% więcej niż w roku poprzednim, z tendencją wzrostową spożycia mięsa wieprzowego i drobiu, przy dalszej redukcji spożycia mięsa wołowego [23].

Przykładowe zachowania konsumentów na rynku

Zmiany dokonujące się na tym rynku w dużej mierze są wynikiem zmian zachowań konsumentów. Wzrasta zapotrzebowanie na nowe grupy produktów spożywczych, obejmujące żywność najwyższej jakości, świeżą (coraz mniejszym

powodzeniem cieszą się klasyczne konserwy mięsne), ekologiczną, wygodną, poprawiającą zdrowie, leczącą lub przeciwdziałającą chorobom cywilizacyjnym i opóźniającą procesy starzenia się. Świadomy konsument poszukuje produktów, które sprostałyby jego oczekiwaniom, a więc przede wszystkim bezpiecznych i odżywczych, charakteryzujących się zróżnicowaną wartością energetyczną (tak, by mógł komponować dietę według własnych życzeń i nawyków żywieniowych), wygodnych w przygotowaniu do spożycia i równocześnie łatwych w przechowywaniu, przydatnych do mrożenia i krótkotrwałego przechowywania chłodniczego lub trwałych w temperaturze otoczenia [3, 15].

Na zachowania konsumentów na rynku mięsa i przetworów mięsnych wpływ wywiera wiele czynników. Analiza problemu jest złożona z uwagi na to, że ankietowe badania marketingowe nie są jednorodne, wiele z nich ma charakter wycinkowy, zależny między innymi od regionu zamieszkania, siły nabywczej konsumentów, stopnia świadomości konsumentki. Trudno jest dokładnie opisać istotę zależności pomiędzy właściwościami produktu a preferencjami konsumentki. Wybrane badania mogą posłużyć jedynie do określenia pewnych kierunków w zachowaniach konsumentów [1, 5, 10, 12].

Badania przeprowadzone przez Cichocką i Pieczonkę [5], dotyczące analizy i uwarunkowań spożycia żywności ekologicznej wśród młodzieży szkolnej i akademickiej w rejonie Polski południowo-wschodniej, wykazały, że takie czynniki, jak: wartość odżywcza, bezpieczeństwo spożycia, dbałość o zdrowie oraz skażenie środowiska stanowiły podstawę do podejmowania decyzji o spożywaniu takiej żywności.

Z uwagi na nagłośnienie przez media problemów chorób odzwierzęcych (BSE) w ostatnim czasie obserwuje się spadek konsumpcji mięsa wołowego i przetworów z niego wyprodukowanych na rzecz wzrostu spożycia mięsa wieprzowego i drobiu. W polskiej diecie, wg danych GUS [20], najczęściej spożywana jest wieprzowina (63%), drób (25%) i wołowina (12%). Na podstawie badań ankietowych przeprowadzonych przez Kowalczyk i wsp. [12], w 2001 r. na terenie województwa mazowieckiego stwierdzono, że produkty mięsne wybierane są z uwagi na ich wartość odżywczą, smakowość, przyzwyczajenia oraz przydatność kulinarną (>60% wskazań odpowiedzi). Przy zakupie mięsa i przetworów mięsnych konsumenci zwracali uwagę przede wszystkim na takie czynniki, jak: świeżość, wygląd zewnętrzny, cena, producent (marka). W najmniejszym stopniu o zakupie mięsa czy wyrobów mięsnych decydowały atrakcyjność i rodzaj opakowania (mniej niż 10% odpowiedzi). Wzrost poziomu dochodu w gospodarstwie domowym w niewielkim stopniu kształtował spożycie baraniny, drobiu i wieprzowiny, minimalnie – cielęciny i nie miał wpływu w poziom konsumpcji wołowiny.

Istotny wpływ na rozwój rynku mięsnego ma proces kreowania marek przez wiodących producentów wyrobów mięsnych. Znalazło to swój wyraz w częstym wyborze przez klientów markowych produktów mięsnych.

Produkt dobrej jakości, dostosowany do gustów nabywców i odpowiednio dobrana komunikacja z konsumentem będzie nieodzownym elementem przetargowym w walce konkurencyjnej na rynku mięsa i przetworów mięsnych. Z badań ankietowych prowadzonych przez Ozimek i wsp. [18] wynika, że jako produkty dobrej jakości postrzegane przez konsumentów są produkty charakteryzujące się takimi cechami, jak:

- pożądane walory smakowo-zapachowe (ok. 85%),
- brak zanieczyszczeń chemicznych (83,9%),
- brak zanieczyszczeń mikrobiologicznych (82,3%),
- wysoka wartość odżywcza (77,0%),
- produkcja metodami ekologicznymi (62,1%),
- brak substancji dodatkowych (60,3%),
- pochodzenie krajowe (44,2%).

Badaną grupę konsumentów z całej Polski różnicowały takie czynniki, jak: miejsce zamieszkania, poziom wykształcenia, wiek oraz faza rozwoju rodziny.

Opracowywanie nowych przetworów mięsnych odbywa się, podobnie jak w przypadku innych artykułów spożywczych, w kilku etapach. Obejmują one [4, 8, 25]:

- 1) koncepcję dotyczącą nowego produktu, jego rozwój i ocenę,
- 2) opracowanie prototypu produktu,
- 3) dobór procesu technologicznego i opakowania,
- 4) wytworzenie produktu w małej skali, ocena wyrobu i analiza finansowa,
- 5) test rynkowy, ustalenie numeru produktu i jego kodu,
- 6) wprowadzenie produktu na rynek,
- 7) komercjalizację.

Opracowanie nowych wyrobów, szczególnie wyrobów mięsnych, dobrze sprzedających się na rynku i jednocześnie w pełni satysfakcjonujących jak największą grupę konsumentów nie jest zadaniem prostym. Jak przedstawiono wyżej, jest to proces skomplikowany i kosztowny, uzależniony od wielu czynników, zaś sukces osiąga się dzięki udanej współpracy specjalistów z różnych branż. Niemniej na polskim rynku pojawia się każdego roku wiele różnych wyrobów mięsnych, część stanowi całkowitą nowość, zaś część jest modyfikacją wyrobów już istniejących.

Przykładem nowych wyrobów mięsnych mogą być choćby trzy nowe produkty jednego z zakładów mięsnych, adresowane do najbardziej wymagającego odbiorcy i smakoszy: szynka, karczek i polędwica sarmacka. Nowo opracowane wędliny są szczególnym rodzajem wyrobów z grupy wędzonek surowych. Ich obróbka polega na soleniu lub peklowaniu, czasem wędzeniu. Otrzymane przetwory charakteryzują się niepowtarzalnym, szczególnym smakiem i aromatem, zaś uzyskana konsystencja

umożliwia krojenie bardzo cienkich plastrów. Na najbardziej wyszukane przyjęcia wędliny te stanowią ciekawą ozdobę stołów. Droga do uzyskania tego rarytasu nie jest prosta. Rozpoczyna się już na etapie selekcji zwierząt, które hoduje się znacznie dłużej, do uzyskania wyższej masy. Konieczne jest zachowanie bardzo wysokiego poziomu higieny począwszy od uboju, przygotowywania, produkcji, składowania, transportu i dystrybucji. Istotne jest też, że wyroby te oferowane są w różnych rodzajach opakowań, dostosowanych do nabywców indywidualnych (małe i duże porcje), jak i firm cateringowych [3].

Podsumowanie

Przy opracowywaniu nowych produktów mięsnych powinno się bardziej odważnie korzystać ze zdobyczy nauki o mięsie i technologii, szerzej uwzględnić w nowo opracowywanych produktach proponowane przez specjalistów trendy żywieniowe, uwzględniać wygodę i oczekiwania konsumentów oraz próbować zadowolić specyficzne grupy konsumentów, opracowując np. produkty dla ludzi starszych, dzieci, kobiet i mężczyzn oraz produkty dla konsumentów o specjalnych wymaganiach dietetycznych, jak też wyroby zaliczane do żywności etnicznej, które cieszą się coraz większym zainteresowaniem [1, 3, 4, 9, 11].

W ostatnich latach można zaobserwować odradzanie się tradycyjnych produktów żywnościowych. Tendencje tę można próbować wykorzystać również do budowy zaufania konsumentów do nowych produktów mięsnych, co pozwoliłoby łatwiej wykreować większą niż dotychczas gamę wyrobów.

Literatura

- [1] Adamczyk G.: Modele żywienia w gospodarstwach domowych. *Przem. Spoż.*, 2002, **9**, 24-40.
- [2] Anonim: Sokołów wprowadza nowe produkty. *Mięso*, 2001, **8**, 18.
- [3] Bartnikowska E., Zawadzka K.: Nowe produkty mięsne. Cz. I. Opracowywanie i wprowadzanie na rynek. *Przem. Spoż.*, 2002, **8**, 62-92.
- [4] Bartnikowska E., Zawadzka K.: Nowe produkty mięsne. Cz. II. Opracowywanie i komercjalizacja nowych produktów mięsnych. *Przem. Spoż.*, 2002, **9**, 10-12.
- [5] Cichocka I., Pieczonka W.: Ekokonsumpcja i niektóre jej uwarunkowania wśród młodzieży szkolnej i akademickiej. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość.*, 2001, **3(28)**, 108-125.
- [6] Czupiał J.: *Ekonomika innowacji*. Wyd. AE, Wrocław 1994.
- [7] Daun H.: Podstawy naukowe projektowania asortymentowego (FDP). Materiały konferencyjne Polsko-Amerykańskiej Szkoły Letniej „Food Product Development”, Wyd. AR, Poznań 1994, s. 1-10.
- [8] Deeth H.: *New Food Product Development Manual (Modules 1-5)*, <http://www.ces.uga.edu/pubcd/b1024-w.html>, 2002.
- [9] Duda Z.: Żywnienie ludzi w podeszłym wieku - wyzwanie i szansa dla współczesnych producentów żywności. *Gosp. Mięś.*, 2000, **3**, 32-35.

- [10] Gutkowska K.: Marketingowa orientacja producentów działających na rynku młodego konsumenta. *Przem. Spoż.*, 2002, **10**, 22-23.
- [11] Gwiazda A.: Wzrost popytu na wygodną zdrową żywność. *Przem. Spoż.*, 2002, **8**, 46-47.
- [12] Kowalczyk I., Mikuta B., Gronczyńska B.: Uwarunkowania zachowań konsumentów na rynku mięsa i przetworów. *Gosp. Mięś.*, 2002, **8**, 34-38.
- [13] Krajewski K.: Specyfika rynku mięsnego w Polsce. cz. I. *Gosp. Mięś.*, 2002, **1**, 12-14.
- [14] Krajewski K.: Specyfika rynku mięsnego w Polsce. cz. II. *Gosp. Mięś.* 2002, **2**, 24-27.
- [15] Makała H.: Żywność wygodna w przemyśle mięsnym. Trendy i oczekiwania konsumenta. *Gosp. Mięś.*, 2002, **11**, 40-42.
- [16] Mruk H.: Strategia produktu a możliwości rozwoju firmy. Materiały konferencyjne Polsko-Amerykańskiej Szkoły Letniej „Food Product Development”, Wyd. AR, Poznań, 1995, s. 17-32.
- [17] Olkiewicz M.: Podstawy naukowe projektowania asortymentowego (FPD). Materiały Konferencyjne „Dni Przemysłu Mięsnego”, Wyd. IPMiT, Warszawa, 1994, s. 31-34.
- [18] Ozimek I., Gutkowska K., Żakowska-Bielmans S.: Postrzeganie żywności przez konsumentów. Referat zaprezentowany na Targach Agro Food, Warszawa, maj 2002.
- [19] Pasternak K.: Rozwój produktu w przemyśle spożywczym. Monografia cz. I. Uwarunkowania, działanie i strategię w przedsiębiorstwie, Wyd. IPMiT, Warszawa 2001.
- [20] Pasternak K.: Rozwój produktu w przemyśle spożywczym. Monografia cz. II. Organizacja procesu innowacji produktowych w zakładzie produkcyjnym, Wyd. IPMiT, Warszawa 2001.
- [21] Rocznik statystyczny GUS. Warszawa 2001.
- [22] Surmacka-Szcześniak A.: Opracowywanie nowych produktów spożywczych w USA. W: *Opracowywanie nowych produktów spożywczych. Food product development*, pod red. J. Czapskiego. Wyd. AR, Poznań 1995, s. 45-63.
- [23] Świetlik K.: Popyt na żywność i jego główne uwarunkowania w latach 2000-2002. *Biuletyn informacyjny ARR*, 2002, **1-2**, s. 49-56.
- [24] Świetlik K.: Popyt na mięso w latach 2000-2001. *Mięso i Wędliny*, 2002, **2**, 50-54.
- [25] Tybor P.T.: *Food Product Development*, <http://www.ces.uga.edu/pubcd/b1024-w.html>, 2002.
- [26] Zawadzka E.: Wdrażanie nowych wyrobów mięsnych. *Gosp. Mięś.*, 1994, 34-36.

THE PRINCIPLES OF DEVELOPING NEW FOOD PRODUCTS TOWARDS MEETING THE CONSUMERS' EXPECTATIONS, EXEMPLIFIED BY MEAT AND ITS PRODUCTS

S u m m a r y

In the paper, the concepts relating to development strategies of new food products and to their marketing are briefly explicated, and general principles of developing such new food products are presented. The “life cycle” of a product is described, and major methods of marketing strategies are characterized. The market of meat and its products in Poland is analyzed and specific features of this economic sector are pointed out. Several examples of how consumers react to novel meat products and new dietary trends are given. The authors emphasize that customers regard some product properties as crucial elements of the required quality, thus, those properties must be included in the novel product development, for example: flavor and smell qualities, no preservative agents added, no chemical and/or microbiological impurities, high nutritive value, differentiated energetic value, etc. The authors point out other quality elements, such as functionality, easy preparation for eating, and suitability to freezing and short-term storage in refrigerators. Moreover, the authors conclude that consumers generally prefer local

food products manufactured using environmental friendly and/or traditional procedures. It is indispensable to include the above-indicated trends while creating and developing novel food products.

Key words: new product, developing principles, consumer, meat products. ☒